

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR LE TITRE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

RAFAEL MOLLINEDO Y HERRERA

1^{re} THÈSE. — *ESSAI SUR LE CYCLE ÉVOLUTIF DES SPIROCHÈTES.*

2^e THÈSE. — *Propositions données par la Faculté.*

Soutenues le 2 Octobre 1941, devant la Commission d'Examen.

Président : M. Ch. PÉREZ, Professeur de Zoologie, Membre de l'Académie des Sciences, Membre de l'Institut.

Examineurs : M. O. DUBOSCQ, Professeur honoraire.

M. P. GRASSÉ, Professeur de Zoologie, (Évolution des êtres organisés).

PARIS

IMPRIMERIE DE PUBLICATIONS PÉRIODIQUES

6, Place du Louvre, 6

1941



Digitized by the Internet Archive
in 2026

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR LE TITRE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

RAFAEL MOLLINEDO Y HERRERA

1^{re} THÈSE. — *ESSAI SUR LE CYCLE ÉVOLUTIF DES SPIROCHÈTES.*

2^e THÈSE. — *Propositions données par la Faculté.*

Soutenues le 2 Octobre 1941, devant la Commission d'Examen.

Président : M. Ch. PÉREZ, Professeur de Zoologie, Membre de l'Académie des Sciences, Membre de l'Institut.

Examineurs : M. O. DUBOSCQ, Professeur honoraire.

M. P. GRASSÉ, Professeur de Zoologie, (Évolution des êtres organisés).

PARIS

IMPRIMERIE DE PUBLICATIONS PÉRIODIQUES

6, Place du Louvre, 6

1941

UNIVERSITE DE PARIS - FACULTE DES SCIENCES

1901-1902

Année 1901-1902

THÈSES

FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

RAFAEL MOLINEDO Y HERNANDEZ

THÈSE - ÉCRITE SOUS LE TITRE ÉCRIT DE LA FACULTÉ

THÈSE - Proposition soumise par la Faculté



Leiden, le 10 Mars 1902

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DES SCIENCES

1902

1902

Faculté des Sciences de l'Université de Paris

MM.

Doyen honoraire.....
Doyen.....

M. MOLLIARD.
C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du Globe.

Professeurs honoraires..

H. LEBESGUE.
Émile PICARD.
Léon BRILLOUIN.
PÉCHARD.
FREUNDLER.
AUGER.
DANGEARD.
LESPIEU.

VESSIOT.
PORTIER.
MOLLIARD.
LAPICQUE.
G. BERTRAND.
Ch. FABRY.
Léon BERTRAND.

WINTREBERT.
DUBOSCQ.
BOHN.
RABAUD.
M. CAULLERY.
J. PERRIN.
E. CARTAN.

PROFESSEURS

Émile BOREL..... T Calcul des probabilités et Physique mathémat.
A. COTTON..... T Recherches physiques.
J. DRACH..... T Analyse supérieure et Algèbre supér.
Charles PÉREZ..... T Zoologie.
M. GUICHARD..... T Analyse et mesures chimiques.
Paul MONTEL..... T Théorie des Fonctions.
L. BLARINGHEM..... T Botanique.
G. JULIA..... T Mécanique analytique et Mécanique céleste.
C. MAUGUIN..... T Minéralogie.
A. DENJOY..... T Géométrie supérieure.
L. LUTAUD..... T Géographie physique et Géologie dynamique.
G. BRUHAT..... T Physique théorique et Physique céleste.
E. DARMOIS..... T Enseignement de Physique.
A. DEBIERNE..... T Physique Générale et Radioactivité.
A. DUFOUR..... T Physique (P. C. B.).
L. DUNOYER..... Optique appliquée.
A. GUILLIERMOND... T Botanique.
M. JAVILLIER..... T Chimie biologique.
Henri VILLAT..... T Mécanique des fluides et applications.

Ch. JACOB..... T Géologie.
P. PASCAL..... T Chimie générale.
M. FRÉCHET..... T Calcul différentiel et Calcul intégral.
E. ESCLANGON..... T Astronomie.
M^{me} RAMART-LUCAS T Chimie organique.
H. BÉGHIN..... T Mécanique physique et expérimentale.
FOCH..... T Mécanique expérimentale des fluides.
PAUTHENIER..... Physique (P. C. B.).
De BROGLIE..... T Théories physiques.
CHRÉTIEN..... Optique appliquée.
LABROUSTE..... Physique du Globe.
PRENANT..... T Anatomie et Histologie comparées.
VILLEY..... Mécanique physique et expérimentale.
COMBES..... T Physiologie végétale.
GARNIER..... T Application de l'analyse à la Géométrie.
PÉRÈS..... Mécanique théorique des fluides.
HACKSPILL..... T Chimie minérale.
TOUSSAINT..... Technique Aéronautique.
M. CURIE..... Physique (P. C. B.).
G. RIBAUD..... T Hautes températures.

CHAZY.....	T Mécanique rationnelle.	G. DARMOIS.....	Calcul des probabilités et Physique mathémat.
GAULT.....	Chimie (P. C. B.).	CHATTON.....	T Biologie maritime.
CROZE.....	Recherches physiques.	AUBEL.....	Chimie biologique.
DUPONT.....	T Théories chimiques.	Jacques BOURCART.	Géographie physique et Géologie dynamique.
LANQUINE.....	T Géologie structurale et Géologie appliquée.	M ^{me} JOLIO ^t CURIE..	Physique générale et Radioactivité.
VALIRON.....	Mathématiques générales.	PLANTEFOL.....	Biologie végétale (P. C. B.).
BARRABÉ.....	Géologie structurale et géologie appliquée.	CABANNES.....	Enseignement de Physique.
MILLOT.....	Biologie animale (P. C. B.).	GRASSÉ.....	T Zoologie (Evolution des êtres organisés).
F. PERRIN.....	Théories physiques.	PREVOST.....	Chimie (P. C. B.).
VAVON.....	Chimie organique.	BOULIGAND.....	Mathématiques.
		CHAUDRON.....	Chimie (P. C. B.).

Secrétaire..... A. PACAUD.

Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK.

PLAN DE LA THÈSE

I^{re} PARTIE

*Historique des recherches
sur le cycle évolutif des Spirochètes*

<i>Historique des recherches</i>		Pages
<i>sur le cycle évolutif des Spirochètes</i>		—
1. Treponema	pallidum.....	1
2. Spirochètes	commensaux.....	14
3. Spirochètes	sanguicoles.....	18
4. Spirochètes	des Termites..	30
5. Spirochètes	des Mollusques.....	32
6. Spirochètes	des Poissons de Mer.....	37

II^e PARTIE

Etude critique

CHAPITRE I. — A) Formes de résistance.....	40
B) Formes de dégénérescence.....	42
C) Formes évolutives particulières.....	43
CHAPITRE II. — Le granule spirochétogène.....	51
CHAPITRE III. — La division chez les Spirochètes.....	55

III^e PARTIE

A) <i>Technique d'imprégnation argentique</i>	61
B) <i>Milieux de culture des Spirochètes sanguicoles</i>	62

IV^e PARTIE

Recherches personnelles

CHAPITRE I. — Spirochaeta	gallinarum.....	75
	culture.....	75
	filtration.....	76
CHAPITRE II. — Spirochaeta	duttoni.....	79
	culture.....	79
	filtration.....	84
CHAPITRE III. — Spirochaeta	hispanica.....	87
	culture.....	88
	filtration.....	90
	Etude du sang à la phase de latence	97
	Etude du sang à la phase de décours	99
CONCLUSIONS GÉNÉRALES.....		101
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....		105
EXPLICATION DES PLANCHES.....		<i>Hors texte</i>

AVANT-PROPOS

Les nombreux travaux consacrés depuis près d'un demi-siècle à l'étude des Spirochètes laissent encore dans l'ombre bien des problèmes ayant trait à leur biologie et à leur classification. Souvent, les auteurs les plus qualifiés demeurent en désaccord sur des points importants; souvent aussi, des mémoires auxquels on pensait pouvoir se reporter utilement se montrent décevants. C'est ainsi, par exemple, que maints chercheurs se basent uniquement sur des examens de frottis ou sur des préparations de tissus, à l'exclusion des cultures vivantes et de leurs caractères biologiques.

Il s'ensuit que certaines conclusions, présentées comme définitives, ne méritent guère d'être considérées que comme des hypothèses, sinon même comme de simples vues de l'imagination.

L'étude des cultures vivantes nécessite, il est vrai, une technique assez délicate, mais elle présente l'avantage de constituer une base solide pour cette sorte de recherches.

Tel est le principe qui a constamment guidé nos investigations sur les Spirochètes commensaux ou parasites de l'homme et des animaux.

Pour essayer de mieux comprendre l'évolution de certaines formes dont la signification reste encore imprécise, nous avons jugé utile d'étendre nos recherches chez des Spirochètes très divers comme les Spirochètes commensaux, les Spirochètes des termites, ceux des mollusques et ceux des poissons de mer.

*La présente thèse concerne à la fois le granule spirochétogène de *Treponema pallidum*, de certains Spirochètes sanguicoles (*Spirochaeta gallinarum*, *Spirochaeta duttoni*) et plus spécialement le spirochétogène de *Spirochaeta hispanica*.*

Nous nous sommes efforcé d'élucider le rôle du granule spirochétogène in vitro comme in vivo.

Au cours de nos recherches, nous avons trouvé une aide inappréciable chez notre Maître, le Dr P. Séguin, qui a bien voulu consacrer de nombreuses heures d'un temps précieux à nous former à la rigoureuse discipline scientifique dont il a lui-même fait sa règle, et qui, avec une inlassable bienveillance, a mis à notre disposition toutes les ressources de son laboratoire.

Mais en matière de syphiligraphie, il est particulièrement

nécessaire que la pratique et l'expérience cliniques marchent de pair avec les travaux de laboratoire, et nous exprimons notre affectueuse reconnaissance au D^r Clément Simon qui a bien voulu nous donner accès à ses services d'hôpitaux, et nous aider de sa vaste érudition.

Nous avons fait notre thèse sous la direction de M. le Professeur Grassé qui a orienté la marche des présentes recherches, et à qui nous adressons ici le témoignage de notre vive gratitude pour les conseils qu'il a bien voulu nous donner.

M. le Professeur Brumpt, de la Faculté de Médecine, membre de l'Académie de Médecine, nous a donné l'appui d'une science parasitologique véritablement universelle, nous a ouvert sa bibliothèque et a mis à notre disposition les souches de son laboratoire. Qu'il nous soit permis de lui exprimer toute notre reconnaissance.

Nous remercions très respectueusement M. le Professeur Pérez, membre de l'Académie des Sciences, membre de l'Institut, qui a bien voulu accepter la présidence de cette thèse.

Essai sur le Cycle évolutif des Spirochètes

PREMIERE PARTIE

Historique des recherches sur le cycle évolutif des Spirochètes

I. — Le Tréponème pâle

TREPONEMA PALLIDUM (Schaudinn et Hoffmann)
Schaudinn, 1905

Synonyme : *Spirochaeta pallida*, Schaudinn et Hoffmann, 1905; *Spironema pallidum*, Vuillemin, 1905; *Microspironema pallidum*, Stiles et Pfender, 1905.

Immédiatement après la découverte de l'agent de la syphilis par SCHAUDINN et HOFFMANN (1905, 1905 *a* et *b*), SCHAUDINN (1905 *c*) émet le premier l'hypothèse d'un cycle évolutif de *Treponema pallidum*. Pour cet auteur, le microorganisme, lors des stades de latence de la maladie chez l'homme, se présenterait sous une forme granulaire, différente de la forme hélicoïdale : ce serait la « phase de repos » (Ruhestadium), par analogie avec la fièvre récurrente.

A la suite des premières recherches de SCHAUDINN, de très nombreux chercheurs se sont efforcés d'établir le cycle évolutif de *Tr. pallidum*. Tous ont, soit par la méthode des frottis, soit par l'examen histologique des pièces imprégnées à l'argent, décrit et figuré des formes plus ou moins aberrantes. Nous ne citerons que les principaux travaux. Une liste très complète en a été dressée par BESSEMANS dans ses nombreuses publications, par JEANSELME (1931), KOLLE et WASSERMANN (1913, 2^e édit.), KOLLE, KRAUS et UHLENHUT (1930, 3^e édit.), MULZER (1927), Er. et Ed. HOFFMANN (1927).

MULZER (1905) signale des « agglomérats » (Haufen) et

BERGER (1906) note des « formes en boucle » (anneau complet) à l'extrémité des Spirochètes courts à un ou deux tours de spire.

Dans une première publication (1905), KRZYSTALOWICZ et SIEDLECKI, étudiant diverses lésions de la syphilis figurent des corps arrondis, des corps allongés, des corps en fuseau mais sans les identifier. Les formes hélicoïdales assureraient la reproduction agame par scission longitudinale. Le cycle sporogonique serait constitué par des individus sexués : microgamètes (individus faiblement ondulés) et macrogamètes (stade Trypanosome). Après fécondation il se produirait une phase de repos « sous une autre forme que celle d'un spirille ou d'un trypanosome, et probablement sous la forme de kyste ou de spore ». De cette dernière forme pourrait surgir un Spirochète typique. A ce propos, BLANC (1911), rapporte « que ces faits n'ont jamais été revus et comme HOFFMANN le remarque justement, les observations de KRZYSTALOWICZ et SIEDLECKI ont été faites sur des lésions ulcérées contenant plusieurs espèces de Spirochètes ». KRZYSTALOWICZ et SIEDLECKI, dans une publication ultérieure (1908), figurent des formes « à corps ramolli » constituées par des Spirochètes à tours de spire lâches, peu mobiles, capables de s'enrouler pour produire les « formes annulaires », semblables aux kystes de PERRIN (*Sp. balbiani*) et qui seraient les formes de repos ou de résistance. Mais de gros renflements en masse peuvent naître aux extrémités des formes ramollies, faisant ainsi apparaître des bâtonnets ou « formes en baguette », considérées comme stades de dépression. Les individus oblongs et granuleux seraient des Spirochètes en voie de dégénérescence.

Dans un cas de surrénalite syphilitique, JACQUET et SÉZARY (1906) notent à côté de Tréponèmes typiques, des « aspects anormaux de ce parasite ». En 1907, ils rapportent, à la Société Médicale des Hôpitaux de Paris, le résultat de leurs observations sur les formes atypiques et dégénératives du Tréponème pâle. Ils ont figuré à côté des formes typiques, des Tréponèmes plus ou moins amincis, à tours de spire irréguliers, des Tréponèmes rectilignes, d'autres granuleux qu'ils considèrent comme des formes de dégénérescence.

Pour Bosc (1906, 1906 a), ces formes anormales seraient « des formes de dégénérescence qui aboutissent à leur désagrégation en grains et en boucles irréguliers ». Au cours de la même année, DOUTRELEPONT (1906) et BENDA (1906) ont décrit des formes plus ou moins aberrantes de *Treponema pallidum*.

PROWAZEK (1907), par l'examen microscopique de frottis faits avec un chancre syphilitique de Singe infecté expérimentalement et de produits syphilitiques humains, décrit, comme faisant partie du cycle évolutif, en dehors de la forme normale spiralée, des formes de « dépression » ou de « souff-

france » du parasite. Ces dernières formes représentées par des Spirochètes enroulés sur eux-mêmes, constitueraient des stades végétatifs du développement. Il a observé, au cours d'une division incomplète dans la région centrale du parasite, deux granules entourés d'une grosse spire de chromatine, tandis que les deux périplastides vides ont l'apparence de deux cils apicaux. Les « stades de repos » (Ruhestadien) débuteraient, d'après lui, par la formation d'une granulation terminale (Endkörperchen), bientôt suivie d'un enroulement du parasite et constitution d'une masse (Verkumplung).

L'existence de telles formes expliquerait les longues périodes de latence de la maladie. Ces formes se multiplieraient par autogamie ou autofécondation.

SÉZARY (1910) a vu, sur des préparations microscopiques faites avec un fragment de gomme artérielle syphilitique (artère sylvienne), au voisinage des nodules gommeux de la périartère, des Tréponèmes typiques, des « formes anormales dégénératives », des Tréponèmes enroulés en forme de couronnes, d'autres enfin qui présentaient un petit renflement creux ressemblant à une vésicule » (méthode histologique de BERTARELLI et VOLTINO). L'auteur rapporte que SCHMORI (1907), dans un cas d'aortite gommeuse avait vu des Tréponèmes granuleux.

En 1910 (a) et en 1912, SÉZARY étudie plus à fond la forme annulaire ou en boucle et la forme granulaire contractée. « Cette boucle, dit l'auteur, est plus ou moins fermée. Assez souvent les deux extrémités du parasite arrivent à se joindre, de telle sorte qu'un cercle complet se trouve réalisé. Dans certains cas, il est manifeste que le cercle a double contour et est formé par le parasite enroulé par deux fois ». Et plus loin, « certains Tréponèmes, dont les tours de spire, quoique épais, sont encore très nettement visibles, forment un anneau épais à rayon très réduit. A côté de ces types qui ne laissent aucun doute sur leur origine, on en note d'autres caractérisés par une masse de 2 à 4 μ de diamètre, percée en son centre d'un orifice d'ailleurs inconstant et quelquefois minuscule ». Dans une note à la Société de Biologie, en 1930, SÉZARY précise que « si cette forme en boucle, à cette époque, avait déjà été signalée par d'autres auteurs, son évolution et son origine n'avaient pas encore été élucidées ». Il accepte l'hypothèse, et cela en réponse à deux travaux publiés à la même Société, en 1930, l'un par MANOUÉLIAN et l'autre par LEVADITI, que ces formes de « dégénération » puissent devenir des formes de « régénération ». Nous reviendrons plus loin sur l'interprétation des images de MANOUÉLIAN et celles très différentes de LEVADITI.

Enfin, en 1934, SÉZARY résume les diverses formes atypiques : étirées, fragmentées, granuleuses, rétractées, épaissies, rectilignes, contractées, avec des nodosités, des formes annulaires.

BALFOUR (1911) signale également des formes granuleuses qui seraient des formes arséno-résistantes (1911 a) probablement responsables des infections latentes et des accidents tertiaires de la syphilis. Ce qui l'amène à conclure ainsi : « I have found these granules to be resistant forms, and their presence in countless numbers in the tissues might explain part of the mechanism of relapse and the difficulty of curing completely some of more chronic Spirochaetal infections, as for example, Syphilis and Yaws » (1911).

Ces aspects granulaires de *Treponema pallidum* ont été retrouvés par MC DONAGH (1912) dans les lésions de la syphilis humaine et par NOGUCHI (1912 et suiv.) dans les cultures pures de *Treponema pallidum*, ainsi que dans les cultures de divers autres Spirochètes.

A côté des formes granulaires qui paraissent devoir être classées comme des formes de dégénérescence, puisqu'elles ont été observées dans des cultures défavorables de *Tr. pallidum*, NOGUCHI a signalé des formes involutives (corpuscules ronds ressemblant à des grains chromatiques), des formes granuleuses, des formes d'enkystement, sans pouvoir préciser leur signification.

Sur des frottis d'un chancre syphilitique d'un malade soumis à l'action thérapeutique de l'arsénobenzol, O'FARREL et BALFOUR (1911) ont vu *Treponema pallidum* expulser des granules. Ce phénomène se produirait même avant l'action de tout traitement.

Pour MÜHLENS (1912, p. 409) les « stades de repos » (Ruhestadien de SCHAUDINN et HOFFMANN) se voient quand les Tréponèmes sont mis au contact de la glycérine : les parasites se détendent et ensuite se pelotonnent, rappelant ainsi les sporozoïtes de la malaria. Comme stades de repos, l'auteur signale les granulations de HERXHEIMER (1905), les formes allant depuis les petits bâtonnets jusqu'à la « forme saucisse » (würzförm) décrites par WECHSELMANN et LOWENTHAL (1905), enfin des Spirochètes déroulés avec, en leur centre, de petits nodules paraissant gonflés et déjà signalés par HERXHEIMER, KRZYSTALOWICZ et SIEDLECKI, v. PROWAZEK. Mais ces stades de repos, écrit MÜHLENS, ont été contestés par KRAUS et PRANTSCHOFF. MÜHLENS ajoute qu'en tous cas il ne s'agit pas là de spores comparables à celles des Bactéries (p. 411).

TOURAINÉ (1912) a constaté, d'une façon constante, des formes atypiques du Tréponème pâle, d'une part dans les lésions anciennes de la syphilis et d'autre part avant l'agglutination des Spirochètes au fond noir.

D'autres formes telles que des « bourgeons latéraux » (Knospen) et des « ombelles » (Dolden) sont figurées par MEIROWSKY (1914, 1929). Ces images observées dans les cultures (?) de *Treponema pallidum*, seraient des formes de multiplication.

JEANSELME et SÉZARY (1925) voient dans les formes atypiques du Tréponème pâle, des formes de dégénérescence.

Rappelons enfin, que des formes granuleuses ont été signalées par ROUKAVISCHNIKOFF (1930), HOFFMANN (1929), WARTHIN et OLSEN (1930, 1931), SALEEBY et GREENBAUM (1931), INGRAHAM (1932).

LEVADITI et YAMANOUCHI (1908) nient l'existence du cycle évolutif de *Tr. pallidum* pendant la période qui précède l'apparition du chancre chez le Singe ou de la kératite chez le Lapin. Pour ces deux auteurs, « la constatation de tréponèmes typiques en voie de développement, à chaque instant de l'incubation, montre bien que celle-ci ne correspond pas à un cycle dans l'évolution du Spirochète pâle ».

A partir de 1927 et jusqu'en 1936, LEVADITI et ses collaborateurs, reprennent l'hypothèse de SCHAUDINN (*loc. cit.*), et se font les promoteurs d'une théorie nouvelle du cycle évolutif de *Tr. pallidum*, comportant une « phase préspirochétienne » (stade invisible) capable de reproduire la « phase tréponémique » (stade végétatif). Cette théorie semble inspirée des travaux de Ch. NICOLLE et ses élèves sur la Spirochétose nord-africaine transmise par les Poux et que nous étudierons plus loin.

Faute de posséder une culture pure de *Treponema pallidum*, LEVADITI et son école ont tourné la difficulté du problème en s'adressant à la syphilis expérimentale du Lapin ou des Muridés.

On sait que dans le syphilome expérimental du Lapin, les Spirochètes sont très nombreux; par contre, dans les ganglions poplités ou inguinaux du même animal, malgré la grande virulence de ces organes, les parasites sont très rares (TRUFFI, 1913; BROWN et PEARCE, 1921, 1922). Ils ont été exceptionnellement décelés par ZURHELLE (cité par HOFFMANN, 1929), HOFFMANN et ARMUZZI (1927), plus fréquemment par BESSEMANS et ses collaborateurs. Par contre, GASTINEL, DELARUE, PULVENIS et COLLART n'ont pas pu déceler de Tréponèmes dans les ganglions lymphatiques des Lapins syphilitiques (méthode de DIETERLÉ et examen au fond noir).

Pour ces recherches, certains se sont servis de la méthode histologique par imprégnation argentique des tissus infectés, d'autres de la méthode des frottis ou de l'examen au fond noir (ultramicroscope), d'autres enfin des deux méthodes associées.

On sait également que les Rats et les Souris syphilitisés expérimentalement par greffe sous-cutanée d'un fragment de chancre de Lapin, ne présentent jamais de lésions spécifiques. C'est, selon l'expression de Ch. NICOLLE et Ch. LEBAILLY (1919), une syphilis « cliniquement inapparente ». Mais les ganglions axillaires ou inguinaux de la Souris, virulents pour le Lapin, par greffe sous-scrotale, peuvent contenir des Spirochètes

(JAHNEL et PRIGGE, 1929; KATO, 1931; YASUMOTO, 1932; LEVADITI et SCHOEN, 1932; LEVADITI, MEZGER et SCHOEN, 1932).

Dès 1927, LEVADITI et ses collaborateurs confirment les travaux de TRUFFI (*loc. cit.*), de PEARCE et BROWN (*loc. cit.*) et constatent « le même contraste entre la virulence des ganglions poplités des Lapins syphilités expérimentalement (souche TRUFFI) et l'absence des Tréponèmes dans ce ganglion ». Ils admettent que le Tréponème s'y trouve sous une « forme invisible ». Lorsqu'ils inoculent un fragment de ganglion lymphatique de Lapin sous le scrotum d'un Lapin neuf, ils ne peuvent déceler le Tréponème pendant les 45 premiers jours qui suivent l'inoculation : c'est la phase préspirochétienne ». La méthode histologique des imprégnations argentiques n'a pu révéler que la présence « de stades spirochètiens offrant l'aspect de granules ou de petites pelotes »... (1932 a). Après ce laps de temps, apparaissent brusquement les Tréponèmes, c'est la « phase tréponémique ». Les Tréponèmes y sont de deux sortes : Spirochètes typiques et Spirochètes ayant subi des modifications de structure et tinctoriales. Ces derniers sont classés, par LEVADITI et ses collaborateurs, en « Spirochètes monilliformes, Spirochètes en massue ou en haltères, Spirochètes en boucles lâches ou incomplètement fermées, Spirochètes en forme de virgule ou de point d'interrogation, Spirochètes à l'état de granulations (0,3 à 0,4 μ) irrégulières, Spirochètes à l'état de granulations presque ultra-microscopiques »... « L'examen synthétique de ces différentes formes, écrivent-ils, nous autorise à les considérer comme des phases successives d'un processus involutif, aboutissant à un stade ultime, granulaire et presque ultra-microscopique du parasite de la syphilis..... Pour nous, ces formes granulaires presque ultramicroscopiques représentent la phase préspirochétienne du virus syphilitique. Les pelotes serrées, de même que les granulations argentophiles, seraient capables de se transformer à leur tour, d'abord en Tréponèmes courts (formes jeunes) ensuite en Spirochètes de plus en plus longs et riches en ondulations (formes adultes) » (1928 a). Ces formes seraient des formes de résistance.

En 1930, les mêmes auteurs, au cours d'expériences faites sur des Souris blanches syphilitisées, voient disparaître les Tréponèmes typiques vers le 2° ou le 3° jour (vers le 30° jour avec la technique plus fidèle de DIETERLÉ, 1932 b) après l'inoculation, en même temps qu'une destruction progressive du greffon. Ils n'ont décelé (1932), sur coupe histologique (méthode de DIETERLÉ), le Tréponème dans les ganglions de la Souris que dans 50 % des cas (1932 b) et cela à partir du 35° au 95° jour. Ces ganglions sont pourtant infectieux pour le Lapin (dès la 12° heure pour LI YUAN PO, 1930 c). « Tout se passe, écrivent-ils, comme si le virus syphilitique, incapable d'engendrer chez la souris un syphilome spirochétien *in situ*, abandonne rapidement le point d'inoculation pour se

loger dans le système lymphatique, où il végète soit sous la forme tréponémique, soit (surtout au début de l'infection) sous une forme infravisible inaccessible à nos moyens d'investigation » (1932 *b*).

En résumé, la forme « ultramicroscopique » ou « infravisible » décrite par LEVADITI et ses collaborateurs, serait présente lors de la phase « préspirochétique » (environ 30 jours) lors de l'inoculation des ganglions de Lapins à d'autres Lapins neufs par voie sous-scrotale. Cette forme serait également présente pendant la « phase de latence » (35^e au 95^e jour) lors de l'inoculation des ganglions aspirochéliens (1933) ou de ganglions spirochéliens de Souris syphilitisés, à des Lapins neufs (inoculations sous-scrotale). Enfin, la virulence du névraxe des Souris syphilitisés serait due à cette forme « infravisible » (1933 *b*, 1933 *c*, 1934 *a*). L'ovaire et l'ovocyte de Souris syphilitisés (1933 *e*) seraient contaminées par la forme « infravisible » de *Tr. pallidum*.

Le scrotum d'un Lapin inoculé avec un fragment de cerveau de Souris syphilitisée, ne montre la présence d'aucun élément tréponémique pendant une période de 20 à 30 jours (1933 *d*). La virulence du névraxe qui se manifeste dans 78 % des cas, serait due à cette forme « infravisible », involutive (1933 *a*), capable par la suite de redonner des formes typiques du parasite (1935 *a*). D'autre part, l'évolution des ganglions aspirochéliens ou spirochéliens est la même après inoculation sous-scrotale au Lapin (1934).

Rappelons, en outre, que pour LEVADITI et son école, dans le névraxe des paralytiques généraux, des formes de transition et des formes spiralées succéderaient à la forme « infravisible ». Les formes spiralées contamineraient les circonvolutions (1936 *a*, 1933 *f*).

Une autre théorie, à propos du cycle évolutif de l'agent de la syphilis, a été émise par LÉPINE (1931, 1931 *a*). Elle a été vivement combattue par BESSEMANS d'une part, et par LEVADITI d'autre part; on ne lui accorde aujourd'hui qu'un assez faible crédit. LÉPINE admet l'existence de deux formes du virus syphilitique : une « forme infravisible, granulaire » et une forme « visible, spirochétienne ». « La virulence, écrit-il, de l'agent étiologique de la syphilis serait le fait exclusif de la forme infravisible du virus, à la fois infectante et résistante, la phase tréponémique étant simplement une forme saprophyte, rappel d'une forme ancestrale, prise par le virus pullulant au sein des lésions ».

Pour étayer cette théorie, LÉPINE s'appuie sur le fait que les Tréponèmes sont absents du ganglion lymphatique du Lapin syphilitisé, sur le fait qu'on ne rencontre pas de Tréponèmes dans les cas de syphilis expérimentale inapparente, sur le fait que les cultures (?) pures de *Tr. pallidum*, injectées à l'animal, déterminent chez ce dernier, une infection nulle, avec toutefois des examens sérologiques (WASSER-

MANN) positifs. Les lésions syphilitiques contagieuses, écrit LÉPINE, renferment « non seulement le Tréponème, mais aussi l'ultravirus syphilitique puisqu'il s'y multiplie comme le Tréponème et avant lui ».

NYKA (1933 à 1938), grâce à une technique particulière d'impregnation argentique, met en évidence, dans les ganglions de Lapins syphilités, des formes filamenteuses plus ou moins longues, plus ou moins rectilignes, difficilement colorables. Il attribue la virulence des ganglions lymphatiques de ces animaux « à la présence, à l'intérieur des cellules lymphatiques, du virus syphilitique sous une forme spirochétienne, filamenteuse, difficilement décelable à cause de sa faible colorabilité » (1933). NYKA retrouve cette forme filamenteuse intracellulaire dans le cytoplasma des cellules du foie, dans les cellules du cerveau, dans les cellules lymphatiques de la rate des Souris syphilités (1933 a), dans le stroma des ovaires des Lapines syphilités, dans le stroma ovarien et les ovules des Souris syphilités (1933 b).

« Quant à la forme filamenteuse, écrit NYKA (1934), c'est la forme d'état du virus syphilitique. Si l'existence du spirochète est éphémère, celui-ci disparaissant une fois son rôle terminé, celle du filament, naissant aux dépens du spirochète, dure autant que la vie de l'animal infecté ». Donc, à côté de la forme tréponémique, il y aurait la forme filamenteuse et entre « toute une gamme de formes de transition permettant de reconstituer toutes les phases de la métamorphose ». Cette forme filamenteuse, capable de se diviser transversalement, peut redonner des Spirochètes. L'infection peut être réalisée également par la forme filamenteuse. Par l'examen au fond noir de *Tr. pallidum* (expériences *in vivo*), NYKA (1936) suppose que la multiplication du parasite se fait sous sa forme filamenteuse et non sous sa forme « spiralée » typique. Il écrit en 1938 que la forme « spiralée » est la « forme de passage » et la forme filamenteuse, la « forme d'état » du virus syphilitique. Mais revenant sur ses premières conclusions, il ajoute : « c'est à ces formes que nous attribuons la virulence du système ganglionnaire, sans pouvoir l'affirmer d'une façon péremptoire, car, jusqu'à présent nous ne disposons pas de matériel virulent ne renfermant, sans conteste, que des formes filamenteuses ». NYKA croit ainsi pouvoir concilier l'opinion des unicistes et des dualistes à propos du polymorphisme de *Tr. pallidum*.

Sur des coupes histologiques de placentas syphilitiques, traitées par l'argent, MANOUÉLIAN (1921) a remarqué une intense phagocytose des Tréponèmes par les macrophages, les polynucléaires et les éosinophiles. Les parasites figurés dans le cytoplasme de ces cellules sont typiques, d'autres sont moniliformes, enroulés, granulaires, etc. « jusqu'à la spirochètolyse ». Par contre, *Tr. pallidum* est rare dans la lumière et les parois des vaisseaux.

La même année, MANOUÉLIAN (1921) rapporte l'observation d'un cas d'hérédo-syphilis dont la seule lésion est une pampylébite spécifique au niveau de la veine ombilicale. Sur les coupes, après imprégnation argentique, ce savant découvre des Tréponèmes au niveau du manchon et dans le caillot intraveineux. L'aspect des microorganismes est très particulier puisque « la plupart présentent des signes évidents de dégénérescence; ils sont épaissis, à spires relâchées, arrondis, granuleux, fragmentés... D'une façon générale, la dégénérescence des Tréponèmes est de plus en plus accusée depuis la lumière du vaisseau jusqu'à la périphérie de la zone inflammatoire, où il n'existe que des granulations que nous considérons comme des débris de tréponèmes ».

A l'appui des premières recherches de SÉGUIN (1930), MANOUÉLIAN (1930), par l'emploi d'une technique histologique d'imprégnation particulière, décrit « l'ultra-virus syphilitique » dans les gommés syphilitiques. Il ne tarde pas à retrouver cet ultra-virus dans « la phlébite syphilitique » du cordon ombilical, dans un cas d'hérédo-syphilis. A côté de Tréponèmes typiques, l'auteur a décelé des formes de dégénérescence : des « Spirochètes épaissis, à tours de spires relâchées, arrondis, granuleux, fragmentés »... « A toutes les périodes de la syphilis, écrit-il, le Tréponème émet des formes minuscules, des ultra-virus constitués par un ou deux tours de spire ou par un granule munis de filaments excessivement fins » (1931). Plus tard, en 1933, étudiant la phagocytose intra-placentaire des Tréponèmes, MANOUÉLIAN arrive aux mêmes conclusions et voit dans l'« ultra-virus » la forme capable de traverser le filtre placentaire, réalisant ainsi l'infection du fœtus *in ovo* (1936). Dans un autre travail (1934), il rapproche le rôle de « l'ultra-virus syphilitique » de celui de « l'ultra-virus tuberculeux » (Recherches de CALMETTE, VALTIS, BOQUET, NÈGRE, SAENZ, SERGENT, DURAND et BENDA, CANTACUZÈNE et ses élèves, cités par MANOUÉLIAN (1934).

En 1935, dans une étude sur la syphilis tardive et les formes minuscules de *Spirochaeta pallida*, il dénomme « granule spirochétogène » la forme anciennement appelée « ultra-virus », pour bien marquer l'idée de germe. Le granule spirochétogène fut retrouvé par MANOUÉLIAN (1935) dans les ganglions lymphatiques des Lapins syphilitisés parmi les cellules lymphoïdes et dans le cytoplasma de certains macrophages (technique d'imprégnation de MANOUÉLIAN et technique des frottis de SÉGUIN). Nous verrons plus loin l'analogie qu'il y a lieu de faire entre les formes décrites par MANOUÉLIAN et celles figurées par P. SÉGUIN : morphologie, propriétés tinctoriales, filtration. Et comme le précise MANOUÉLIAN (1935 a) « les dimensions sensiblement analogues des granules du parasite de la syphilis et les granules des spirochètes filtrables, rendent vraisemblable l'hypothèse de la filtrabilité du spirochétogène syphilitique ». Ce granule spirochétogène est constitué par un

grain argyrophile muni d'un filament terminal ondulé. MANOUÉLIAN écrit à ce propos : « ce filament est d'une importance capitale dans l'étude des spirochètes, car c'est grâce à ce filament qu'on peut affirmer la nature spirochétique d'un granule, et suivre aisément les phases d'évolution en spirochète, à un tour, puis en individus adultes. Sans cela comment distinguer parmi tant de granules imprégnés ce qui est vivant, et bien vivant et constitue le germe d'un spirochète et ce qui n'est que le reliquat de la dégénérescence, de la destruction des parasites ».

Les spirochétogènes ont été mis en évidence par MANOUÉLIAN dans les lésions les plus variées de la syphilis : au niveau d'un tissu anhisté des gommés, dans les anévrysmes de l'aorte, dans un cas d'aortite, au niveau de la substance grise de l'écorce cérébrale et autour des capillaires dans la paralysie générale, dans les syphilides secondaires, et, nous l'avons déjà vu, dans la syphilis héréditaire. Le granule spirochétogène serait capable de se diviser en tant que spirochétogène, et d'être à la fois le germe et la forme de résistance aux traitements anti-syphilitiques. Dans une récente publication, l'auteur résumant ses travaux antérieurs (1940) étudie les formes de dégénérescence et les formes de résistance du Tréponème pâle. Les microphotographies qui ornent la publication ne laissent aucun doute sur l'interprétation des images.

Enfin, quand il aborde la division de *Tr. pallidum*, MANOUÉLIAN préfère donner le nom de « division normale » à la division « homotypique » décrite par SÉGUIN antérieurement et celui de « division anormale » au type de division « hétérotypique » (1) de SÉGUIN (1939, 1940).

CLÉMENT SIMON et R. MOLLINEDO (1937) ont mis en évidence des granules spirochétogènes dans les adénites primaires syphilitiques. L'examen du suc ganglionnaire retiré par ponction a permis de poser un diagnostic certain de syphilis 24 jours avant l'apparition des formes spiralées dans ce ganglion et avant que les réactions sérologiques ne deviennent positives (11 jours pour le HECHT et 26 jours pour le WASSERMANN). Le granule spirochétogène fut retrouvé après une série d'injections intra-veineuses d'arsénobenzol (au total 5 gr. 10) chez la malade qui ne présentait à l'examen clinique qu'une adénopathie inguinale du type syphiloïde.

Les mêmes auteurs rapportent, en 1940, les résultats des ponctions ganglionnaires faites chez 21 malades, avec un total de 33 ponctions, pratiquées aux divers stades de la maladie. Alors que la recherche du Tréponème sous sa forme hélicoïdale leur apporte un pourcentage de 80 chez des malades avant tout traitement, ce pourcentage tombe à 46,7 chez des malades en cours de traitement. La recherche du granule spirochétogène montre, au contraire, un pourcentage de 93,4.

(1) Nous définissons ces termes aux pages 17, 58 et 59.

CLÉMENT SIMON et R. MOLLINEDO, par l'emploi de la technique d'imprégnation de P. SÉGUIN, sont arrivés à cette conclusion : « c'est dans cette voie que l'on pourra s'orienter vers une garantie de la curabilité de la syphilis, car tant qu'il restera un granule spirochétogène dans l'organisme, on pourra affirmer que la guérison n'est pas obtenue ». On voit l'importance que paraît devoir jouer le spirochétogène dans les Spirochètes et en particulier dans la syphilis où la question de la guérison est un problème capital.

Ainsi, le spirochétogène paraît être, non seulement une forme qui fait partie du cycle évolutif du parasite de la syphilis, mais aussi une forme de résistance. Par analogie avec d'autres Spirochètes, il nous est permis de penser que le spirochétogène de *Tr. pallidum* est filtrable et qu'il constitue un aspect morphologique du parasite. Il semble que l'on puisse retrouver dans l'organisme humain, aux divers stades de la syphilis, le même cycle évolutif que l'on observe dans les cultures de Spirochètes : divisions homotypiques, puis divisions hétérotypiques leur succédant, pour arriver à la formation du granule spirochétogène.

En 1941, nous avons publié, en collaboration avec CLÉMENT SIMON, trois observations de gommés syphilitiques cutanées. Nous avons pu y déceler le spirochétogène de *Tr. pallidum* avec beaucoup plus de fréquence que le parasite lui-même. On sait en effet que les formes hélicoïdales sont très rares dans les accidents tertiaires.

Ce dernier travail confirme nos recherches antérieures sur l'évolution de *Tr. pallidum* chez l'homme. Or, si certains médicaments (As, Bi, Hg) agissent bien dans les accidents primo-secondaires de la maladie, il faut avoir recours à d'autres (As pentavalent, iodures, etc...) dans la thérapeutique des accidents tertiaires ou nerveux.

Donc, d'une part : cycle évolutif et, d'autre part : variété des médicaments. Voilà deux bases sérieuses qui doivent permettre aux chimiothérapeutes de rechercher des médicaments spécifiques propres à faire disparaître les spirochétogènes, donc à s'orienter vers la curabilité certaine de la syphilis.

Ces recherches qui peuvent paraître d'un caractère purement médical, nous ont semblé nécessaires à résumer, car elles apportent une argumentation solide dans nos connaissances sur la biologie des Spirochètes.

Après cette longue liste de chercheurs qui se sont efforcés par des hypothèses plus ou moins ingénieuses, de démontrer l'existence d'une forme invisible de *Tr. pallidum*, il faut donner celle, plus courte, des savants qui ne se rallient pas à cette théorie, et combattent en particulier les idées qu'ont soutenues LEVADITI et son école de 1927 à 1936.

HOFFMANN (1929) écrit à ce propos : « Die Unterscheidung

körniger Degenerationsformen von granularen Entwicklungsformen ist nicht genügend sicher möglich, besonders nicht in überfärbten und im Schnitt versilberten Präparaten » (cité par BESSEMANS, 1934). Sa critique est particulièrement judicieuse, car l'étude morphologique des Spirochètes, a conduit les chercheurs qui ont pratiqué des examens microscopiques sur coupes ou sur frottis colorés, à des interprétations aussi diverses que fantaisistes, comme nous le verrons dans un chapitre ultérieur. Les corpuscules ou formes granulaires seraient, pour HOFFMANN, des produits de dégénérescence aboutissant à la destruction du parasite.

JAHNEL, PRIGGE et ROTHERMUNDT (1932, 1933) supposent que la difficulté que l'on éprouve à mettre en évidence les Tréponèmes, est due à la grande rareté des parasites dans les adénopathies des Lapins syphilitisés expérimentalement. Leur théorie est basée sur le fait qu'ils ont constaté des Tréponèmes typiques autour des vaisseaux et dans la zone périphérique des lésions lymphatiques chez le Lapin. La virulence de ces organes serait due à ces rares parasites. De plus, s'il existait réellement une forme ultramicroscopique, les expériences de filtration auraient donné, disent-ils, des résultats positifs; or, ces auteurs n'ont obtenu que des échecs dans leurs tentatives de filtration de matériel syphilitique broyé et dilué.

L'existence d'un cycle évolutif n'est pas admise par STREMPER (1931), lequel a décelé des Tréponèmes dans les ganglions lymphatiques des Lapins infectés expérimentalement par greffe sous-scrotale.

Deux auteurs américains, BROWN et PEARCE (1921, 1922) attribuent une grande virulence aux rares parasites présents dans les ganglions lymphatiques des Lapins syphilitisés : « Thus we are forced to the conclusion by the results of these experiments that actual numbers of spirochetes may play a very small role as causative factor in producing an active progressive syphilitic orchitis and that the state of vitality or degree of infectivity of the spirochetes is of much greater importance » (cité par NYKA, 1938).

L'école belge de BESSEMANS (1932, 1933, 1936 a, 1937) et VAN HAELST (1933, 1933 a, 1933 c, 1934) rejette l'hypothèse formulée par LEVADITI et ses collaborateurs d'une part, et celle émise par LÉPINE (*loc. cit.*) d'autre part. Le P^r BESSEMANS écrit que « l'existence d'une forme invisible (ou infravisible) du virus syphilitique n'est pas démontrée. Cependant elle est probable » (1932). BESSEMANS, en 1936, prend plus nettement position et écrit : « les formes vraiment atypiques du Tréponème pâle sont vraisemblablement des éléments altérés, des produits de destruction n'ayant rien de commun avec un cycle évolutif dont l'existence est d'ailleurs fort incertaine (p. 36). Et, épousant la théorie de PEARCE et BROWN (*loc. cit.*), BESSEMANS et ses collaborateurs expliquent la grande virulence des ganglions lymphatiques des Lapins syphilitisés, par le fait que

tout en étant rare, le « Tréponème ganglionnaire du lapin syphilité constitue une variété douée d'une virulence exaltée » (1934, 1934 a, 1935, 1935 a, 1936) et d'une vitalité plus grande que le Tréponème syphilomateux (1933 a, 1935 c, 1935 d). De plus, les durées moyennes de l'incubation divergent assez, et comportent, chez le Lapin, vingt-deux jours pour le virus syphilomateux du Lapin, trente ou quarante jours respectivement pour le virus des ganglions inguinaux ou celui des poplites contemporains du syphilome floride... » (1936 a).

Les savants gantois, se servant d'une technique spéciale « d'ultra-numération homogène » au fond noir (1933 c, 1934, 1934 a, 1935 b) ont pu déceler des Tréponèmes dans les divers organes des animaux infectés. Par ce procédé, ils ont pu voir les Spirochètes dans le cerveau, les ganglions axillaires et inguinaux, la rate des Souris syphilités (1933, 1933 c) ainsi que dans le testicule et le cœur de ces mêmes animaux, confirmant de la sorte une partie des recherches de STROESCO et VAISMAN (1937).

VAN HÆLST (1934), reprenant les expériences de GASTINEL et PULVENIS (1934) sur la dose-seuil de l'infection inapparente, constata que le taux des Tréponèmes était moindre dans les ganglions lymphatiques que dans le tissu syphilomateux : le Tréponème possède, dit cet auteur, une virulence plus grande dans le tissu ganglionnaire, alors que cette même virulence est atténuée dans le tissu syphilomateux par suite des réactions de défense de l'organisme.

Enfin, il est des chercheurs qui ont trouvé des formes atypiques de *Tr. pallidum*, mais qui ne se sont prononcés ni pour, ni contre l'hypothèse de l'existence d'un cycle évolutif. Ce sont WARTHIN et OLSEN (1930, 1931), SALEEBY et GREENBAUM (1931), INGRAHAM (1932).

Il est intéressant de rapprocher l'opinion de HOFFMANN (*loc. cit.*) de celle de WARTHIN et OLSEN : ... « we do not consider that any of the evidence so far offered for this conclusions is convincing, inasmuch as hypothetical considerations, rather than experimental, form the basis by which it has been reached » ... (1930).

Dans les ganglions satellites du chancre humain, WARTHIN et OLSEN, ont pu mettre en évidence, par l'emploi d'une technique d'imprégnation qui leur est propre, des formes intracellulaires. Alors que dans le chancre ils notent un granule de taille irrégulière, dans le tissu lymphoïde, le granule leur est apparu uniforme. Malheureusement, la description qu'en donnent ces auteurs laisse croire que ces formes granulaires (lymphocytaires ou cellules géantes) sont semblables à celles décrites par LEVADITI (*loc. cit.*) et à celles figurées par MANOUËLIAN (*loc. cit.*).

Or, nous nous permettons d'attirer l'attention sur le fait que les descriptions de ces deux derniers auteurs ne peuvent manifestement pas concerner les mêmes formes.

II. — Spirochètes commensaux de l'Homme

Chez l'Homme, de très nombreux Spirochètes vivent à l'état commensal au niveau de diverses régions, en particulier la bouche et le pharynx, les organes génitaux, l'intestin et la région ano-génitale. L'étude des Spirochètes buccaux, et partant pulmonaires, celle des Spirochètes génitaux, est actuellement très poussée grâce aux recherches de P. SÉGUIN et R. VINZENT qui ont pu cultiver ces parasites dans des milieux anaérobies au sérum-rein de Lapin. Sans vouloir entrer dans les détails techniques, nous nous bornerons aux Spirochètes dont on a étudié le comportement dans les milieux de culture ou *in vivo* chez l'homme.

MÜHLENS et HARTMANN (1906) à partir de cultures en milieu au sérum-ascite, ont pu observer que *Sp. dentium* et *Bacillus fusiformis* étaient deux organismes bien différents (pp. 81-92). Chez *Sp. buccalis* Cohn 1875 et chez *Sp. dentium* Koch 1877, HARTMANN et MÜHLENS ont remarqué deux modes de multiplication : une division transversale et une multiplication sexuée (?). Ils ont décrit des formes en tétard, constituées par de petits Spirochètes présentant un renflement en forme de boule à l'une de leurs extrémités, avec deux points de couleur plus foncée (fig. 51 *a* et *b*, des auteurs). Ces formes rappellent celles décrites par PROWAZEK chez *Sp. gallinarum*, par PERRIN chez *Sp. balbianii*, par KRZYSTALOWICZ et SIEDLECKI chez *Sp. pallida*. Peut-être ne sont-elles pas des formes de multiplication, mais avant de tirer des conclusions hâtives, HARTMANN et MÜHLENS, les interprètent comme des formes résultant d'un phénomène d'agglutination (Aneinderhanging) à la manière d'une plasmogamie. Les auteurs ont été amenés à cette interprétation après avoir constaté un caractère de dépression (Depressionsmerkmale) chez certains individus isolés.

PROWAZEK (1907), après avoir décrit la division longitudinale chez *Sp. schaudinni*, agent de l'ulcère phagédénique des pays chauds, a noté, chez ce même parasite, des renflements terminaux (Endanschwellung) qui précèdent un enroulement progressif du microorganisme (fig. 6 et 7 de l'auteur). Cet enroulement va en augmentant jusqu'à ce que le Spirochète se pelotonne à peu près complètement. Le peloton, intensément colorable, constitue la « forme de repos », analogue à celle décrite pour *Sp. gallinarum* et pour *Sp. pallida* par PROWAZEK. D'autre part, PROWAZEK a figuré (fig. 8 et 9) des formes sexuées chez *Sp. schaudinni* et représentées par des Spirochètes déroulés : la forme femelle est un peu plus épaisse que la forme mâle, d'après cet auteur.

De plus, les formes de repos par enroulement du corps du Spirochète ont été vues par PROWAZEK chez *Sp. buccalis* (fig. 16), chez *Sp. framboesiae* du Pian (fig. 22 et 23), et chez *Sp. pallida* (fig. 24 et 25).

Ces stades d'enroulement (Aufwicklungstadien) ont été retrouvés par KEYSSELITZ et MAYER (1909) chez *Sp. schaudinni* (fig. 30 à 40 des auteurs). Ils ont même remarqué la division longitudinale (Längsteilung) des stades d'enroulement semblables à ceux décrits par PERRIN (*Sp. balbianii*), PROWAZEK (*Sp. gallinarum*, *Sp. buccalis*, *Sp. pertenuis*, *Sp. schaudinni*), MAYER (*Sp. duttoni*), KRZYSTALOWICZ et SIEDLECKI (*Sp. pallida*), GONDER (*Sp. pinnae*). Les stades d'enroulement constitueraient la « forme durable », à l'encontre de LEVADITI qui les interprète comme une forme de dégénérescence. Les images reproduites par KEYSSELITZ et MAYER sont semblables à celles publiées par PROWAZEK.

Les formes durables (Dauerformen) débutent par l'enroulement d'une extrémité du parasite; il se produit ensuite, par accolement, un pelotonnement jusqu'à la forme en boucle (fig. 34 à 36).

MACFIE (1917) a décrit chez *Spirochaeta urethrae* Macfie, 1917, isolé à partir d'une uréthrite aiguë, après coloration, des granulations chromatiques situées dans le cytoplasme du parasite. D'après l'auteur, la multiplication granulaire pourrait se faire à partir de ces organites.

Sur des frottis faits à partir d'un exsudat pyorrhéique prélevé au second jour après la deuxième injection de Novarsenobenzol et colorés par la méthode de Giemsa, KRITCHEVSKY et SÉGUIN (1920) ont remarqué non seulement une diminution très nette du nombre des Spirochètes buccaux, mais aussi une disposition en boucle de ces microorganismes ainsi que des stades de phagocytose par les leucocytes.

HOLLANDE (1934) a remarqué, chez les Spirochètes de la bouche (*Sp. vincenti*, *Sp. buccalis*, *Sp. dentium*) obtenus à partir de sécrétions pyorrhéiques et colorés par sa technique particulière, l'apparition d'un ou de plusieurs « schizoplastes » au niveau du ou des points de division des Spirochètes avant la division transversale. L'espace clair serait formé par la rétraction du protoplasme après division du métanucléosome et du nucléosome. L'espace clair est limité par la paroi externe du Spirochète (périplaste). Puis un étirement se produit, donnant naissance à un tractus très mince, simulant un flagelle ou un cil semblable à ceux décrits par SCHAUDINN pour *Sp. pallida*. HOLLANDE a enfin figuré une « fascea » chez ces Spirochètes.

KERMORGANT (1925, 1926, 1926 a) croyant avoir cultivé le Spirochète des oreillons en culture impure, remarque le premier, la présence d'un granule muni d'un filament ondulé et prenant naissance à l'extrémité du parasite.

Ce « granule spirochétien » a été considéré par KERMORGANT comme la forme filtrable du virus ourlien, capable de redonner un nouveau Spirochète. Malheureusement, les cultures employées par KERMORGANT n'étaient pas pures mais associées

à un vibrion, ce qui a pu prêter à confusion dans l'interprétation des résultats.

Les premières recherches relatives au cycle évolutif des Spirochètes ont été entreprises par SÉGUIN qui a décrit et figuré en 1930, l'« ultra-virus spirochétiqne » ou « spirochéto-gène » de *Sp. calligra* Noguchi 1913, parasite commensal des organes génitaux de l'Homme, à partir de frottis faits avec une culture pure de ce germe. L'ultra-virus spirochétiqne est constitué par des formes à 1/2, 1, 2 tours de spire, munies d'un fin filament terminal ondulé, provenant de la « fragmentation irrégulière du protoplasme des Spirochètes typiques ».

Cette découverte fut pendant très longtemps méconnue, sauf par MANOUELIAN (*loc. cit.*) qui retrouva des formes analogues chez *Sp. pallida* dans diverses lésions de la syphilis humaine et expérimentale.

La même année, SÉGUIN (1930 a) rapporte ses observations faites sur des expériences de filtration à travers des bougies Chamberland L2 et L3, de cultures pures de *Sp. calligra* en bouillon-sérum-rein de Lapin et âgées de plus de 20 jours. Les frottis faits à partir du filtrat et colorés par la technique de SÉGUIN, n'ont montré la présence d'aucun élément spirochétiqne, mais seulement des formes dites « ultra-virus » ou spirochéto-gènes. Ce filtrat ensemencé dans un milieu neuf a donné naissance à de nombreux Spirochètes.

SÉGUIN a également retrouvé des formes semblables dans les cultures âgées de deux Spirochètes buccaux (voisins de *Sp. intermedia* Prowazek). Il rappelle que seules les formes décrites par KERMORGANT peuvent être rapprochées de celles figurées par lui et que les formes « soi-disant involutives » signalées par nombre d'auteurs et dont LEVADITI a donné récemment une reproduction schématique n'ont aucun rapport avec nos images ».

SÉGUIN et VINZENT (1938) décrivent le granule spirochéto-gène de *Sp. microdentium* Noguchi, 1911.

SÉGUIN (1939-1940) dans un remarquable travail publié dans les *Annales de Dermatologie et de Syphiligraphie*, fait une étude complète du granule spirochéto-gène. Il décrit et reproduit de nombreuses micro-photographies des spirochéto-gènes de divers Spirochètes buccaux obtenus en cultures pures : *Sp. microdentium* Noguchi, 1912; *Sp. ambigua*, Séguin et Vincent, 1936; *Sp. comandoni* Séguin et Vincent, 1936; *Sp. orogyrata*, Séguin et Vincent, 1936; *Sp. buccalis* Cohn, 1875; *Sp. macrodentium* Noguchi, 1911; puis les spirochéto-gènes de *Sp. refringens* Schaudinn, 1905; de *Sp. calligra* Noguchi, 1913 pour les Spirochètes génitaux de l'Homme. Enfin le spirochéto-gène d'un spirochète isolé par R. VINZENT d'un abcès d'un Rat, etc. (Pl. I, II, III, VI).

Dans les cultures jeunes des Spirochètes, SÉGUIN a observé la division transversale « en deux tronçons » égaux, qui se libèrent par rupture brusque du périplasme (Pl. I, fig. 1). Dans

les cultures plus âgées, « la mobilité est ralentie » et la division s'accompagne d'un étirement périplasmique. Dans le premier cas, les deux organismes, de même taille, possèdent chacun à l'extrémité qui les reliait immédiatement avant la division, un filament ondulé (reliquat de l'étirement périplasmique) et « témoin de la mobilité de l'organisme » : c'est la division égale ou « homotypique » simple. Mais on peut observer une fragmentation du parasite en plusieurs tronçons égaux : c'est la division égale ou homotypique multiple. Dans les vieilles cultures les deux Spirochètes issus de la division transversale ne sont plus égaux : c'est la division inégale ou « hétérotypique » simple ou multiple. « Souvent même l'inégalité est plus manifeste. Un Spirochète de 4 à 6 tours de spire est uni par un filament ondulé à un microspirochète d'un tour de spire » (Pl. I, fig. 2). A la place d'un microspirochète de quelques tours de spire il est possible de voir un « spirochétogène » relié à un Spirochète typique par un filament ondulé (Pl. I, fig. 3).

La division transversale inégale ou hétérotypique multiple peut être représentée par « un streptospirochète constitué par un Spirochète normal, un granule, et deux microspirochètes de taille inégale ».

SÉGUIN conclut que « morphologiquement, les granules ne peuvent être interprétés que comme des formes de multiplication ».

Les spirochétogènes séparés des Spirochètes typiques par filtration, etensemencés dans des milieux convenables, sont capables de redonner des Spirochètes typiques. Mais ils passent auparavant par une phase filamenteuse.

En définitive, il y a alternance des modalités de fragmentation chez ces microorganismes : la division homotypique précède la division hétérotypique dans les cultures.

Rappelons enfin que dans les cultures pures, mais âgées de *Spirochaeta phagedenis*, NOGUCHI (1912 b) a noté :

1° Des pseudo-spores présentant à un pôle un point chromatique;

2° Des masses rondes, ovoïdes, irrégulières et se colorant en rouge par le Giemsa avec un ou deux points réfringents;

3° Des formes de transition intermédiaires.

Mais là encore, NOGUCHI n'apporte aucune précision sur le rôle et la destinée de ces formations.

Chez *Sp. buccalis*, COLES (1936) a constaté le même phénomène déjà signalé chez *Sp. pallida* et autres Spirochètes buccaux, à savoir l'expulsion de granules hors du cytoplasme du parasite. D'abord intra-spirochètiens, puis libres, les granules seraient infectants, ainsi que l'a décrit FANTHAM (1915) pour *Sp. bronchialis*.

III. — Spirochètes sanguicoles

Très tôt, les Spirochètes sanguicoles ont retenu l'attention des chercheurs, tant par leur comportement que par leurs dimensions, qui rendent les observations plus faciles que sur *Tr. pallidum* ou sur d'autres organismes de même taille.

PROWAZEK (1906) a pu noter, chez des Poulets infectés par *Sp. gallinarum*, MARCHOUX et SALIMBENI, 1903, pendant les crises de la maladie, des formes de repos (Ruhestadien) formées par l'enroulement des parasites. Ces formes ont été observées à l'intérieur des érythrocytes (Zellsparasiten) et dans le sérum de Poulet. Enfin, les nœuds et les gouttes signalés par l'auteur, ne seraient pas des produits de dégénérescence mais représenteraient bien des stades de repos, des formes de reproduction par autogamie.

Bien qu'il n'ait pas constaté la transformation des Spirochètes en granules chez *Argas persicus* infecté par *Sp. gallinarum*, PROWAZEK (1909) a cependant décelé dans l'intestin de l'invertébré, des filaments décrits par LEISHMAN. Ces filaments présentaient des épaississements à la partie médiane. C'est ainsi que chez *Argas persicus*, le cycle évolutif de *Sp. gallinarum* se ferait par division multiple, formation de formes grêles et de stades de repos.

La découverte de MARCHOUX et SALIMBENI (1903) relative au rôle joué par *Argas persicus* comme vecteur de *Sp. gallinarum*, a ouvert la voie à toute une série de chercheurs. Dès 1904, MILNE, puis en 1905, DUTTON et TODD montrent le rôle d'*Ornithodoros moubata* dans la transmission de la Tick fever (1905, 1905 a).

Deux ans plus tard, DUTTON et TODD émettent, les premiers, l'hypothèse d'un cycle évolutif de *Sp. duttoni* Novy et Knapp, 1906, chez l'acarien *Ornithodoros moubata* (Murray, 1877). Dans les cæcums de l'hôte, préalablement gorgé de sang infectieux, ils ont noté la fragmentation des Spirochètes en fins granules; ces granules seraient libérés par la suite. Mais, à côté de ce mode de segmentation, ils ont constaté, à la partie médiane ou terminale des Spirochètes, un petit renflement. Ce renflement, à son tour, serait capable de se diviser en deux granules. DUTTON et TODD auraient trouvé ces granules, d'un diamètre de 1 à 3 μ et colorés en bleu par le Giemsa, dans le tube digestif et dans les tubes de Malpighi des Ornithodores. Ce granule présenterait en son centre, un petit point rouge. Les auteurs auraient pu suivre la filiation entre ces granules et les formes en virgule assez voisines des Spirochètes.

Dans la spirilliose expérimentale des Poules, LEVADITI (1904) après avoir remarqué la destruction rapide des parasites par les macrophages, signale une « absence de tout signe de transformation granulaire ou moniliforme des spirilles ». Ce phénomène est particulièrement net dans les macrophages du suc pulmonaire de la Poule, où LEVADITI a noté des « spirilles

entortillés ». Dans la rate d'un Poulet mort de l'infection, l'auteur a également remarqué des « spirilles droits et des spirilles entortillés ».

LEVADITI et MANOÛÉLIAN (1906) ont observé la phagocytose de *Sp. gallinarum* par les cellules de Kupffer au niveau du foie chez la Poule. « Cet acte phagocytaire », écrivent-ils, « se termine toujours par la transformation des Spirilles en des corpuscules de forme irrégulière et qui retiennent fortement l'argent et destinées à être définitivement digérées par le protoplasma leucocytaire ». A côté des formes en boucle ou en anneau, les auteurs ont observé « ces corpuscules » qui « proviennent très vraisemblablement de spirilles dégénérés ».

Pour MAYER (1908) la ciliation pérित्रiche des Spirochètes sanguicoles, *Sp. duttoni* en particulier, serait le résultat d'une macération des parasites au cours des manipulations. Sur le vivant, MAYER n'a jamais constaté ces formations. L'auteur a observé, au niveau du foie, à la fin de la crise, des formes en anneau qui seraient des formes de repos, à l'encontre de LEVADITI et MANOÛÉLIAN qui les considèrent comme des formes d'involution, de destruction phagocytaire. Mayer nie le rôle des phagocytes...

L'examen de ces formes a conduit MAYER à les considérer comme des formes de repos à cause de l'homogénéité de leur taille, de la régularité de leur apparition, enfin à cause du nombre notable de ces formes un peu avant et un peu après la fin de la crise.

LEISHMAN (1909, 1910, 1910 a, 1913, 1918, 1920) reprend l'étude du cycle évolutif de *Sp. duttoni* chez *Ornithodoros moubata*. Il constate que les Spirochètes ingérés par la tique, après avoir perdu leur mobilité dans le tube digestif vers le 3^e jour, se fragmentent en de courts segments ou en granules plus ou moins arrondis. La formation des granules peut se faire sur la partie médiane ou terminale du parasite. Les granules décrits par LEISHMAN, colorés en bleu par le colorant de Giemsa, de forme arrondie, peuvent être retrouvés vers le 3^e ou 4^e jour, dans les tubes de Malpighi, groupés en amas, ainsi que dans le tube digestif, les oviductes et les ovaires. Mais si ces acariens sont maintenus à une température voisine de 30° C., les granules s'allongent et, vers le 8^e ou 10^e jour, des Spirochètes typiques apparaissent dans les tubes de Malpighi et les cæcums. LEISHMAN a cru voir là une véritable « schizogonie », tant le nombre des granules est élevé (formation de rosette) et conclut que les Spirochètes peuvent se présenter sous la forme granulaire à un certain stade de leur développement. L'infection serait produite par les granules rejetés avec la sécrétion des tubes de Malpighi, lors de la piqure de l'hôte vertébré par l'acarien. LEISHMAN a réussi, en inoculant des organes de tiques placées à une température de 20° C., donc ne contenant que des granules, à infecter des Souris.

BREINL et KINGHORN (1906) après avoir dilué et filtré sur bougie Berkefeld n° 9, du sang de malades atteints de Tick fever, ont réussi à provoquer l'infection dans 50 % des cas. De plus, pendant la période apyrétique de la maladie, le sang qui ne contenait aucune forme spirochétienne typique, était capable, par inoculation, de reproduire la spirochétose de DUTTON.

Sur des préparations fixées et colorées de *Sp. duttoni*, BREINL (1907) a vu des grains irréguliers et a pu observer le même phénomène que PROWAZEK (1906, *loc. cit.*) : formes en écheveaux, formes kystiques et formes d'apparence gonflées (swollen). En résumant son travail sur le cycle du parasite de DUTTON et TODD, ce savant anglais s'exprime ainsi : « Just before the crisis the spirochaetes disintegrate, certain of them coiling up into skeins, the majority of which are phagocytosed by the spleen. Some of them become encysted and break up into very small bodies, out of which the new generation of Spirochaetes is evolved ».

CARTER (1907) rapporte avoir vu chez *Sp. duttoni* :

1° De petites masses ovales, intensément chromatiques situées soit au centre du parasite soit latéralement (fig. 26 et 30 de CARTER).

2° Des gonflements légèrement plus grands constitués par une vésicule ovale, faiblement colorée, à l'intérieur de laquelle on peut voir deux vésicules chromatiques. Cette vésicule peut être reliée au parasite par une fine connexion.

3° Un type très grand ressemblant à une vésicule formée par une zone intensément colorée, dans le sens de la longueur du Spirochète, et une portion plus faiblement colorable (fig. 29 a et 29 b de l'auteur).

Des images non moins curieuses ont été décrites par CARTER (1908) chez un « Arabian Spirochaeta ». Le cycle végétatif comporterait une phase préméiotique...! L'auteur a décrit des corpuscules présentant au centre une gaine cyto-plasmique non définie, des vésicules ovales cytoplasmiques avec en leur centre, deux corpuscules ovales de même grandeur, disposés aux deux extrémités de cette vésicule.

BALFOUR (1908 à 1912) expérimente sur *Sp. gallinarum*. Il décèle les granules décrits par LEISHMAN dans le tube digestif, dans les tubes de Malpighi, les glandes salivaires, les ovaires, les oviductes et les œufs d'*Argas persicus*. En maintenant les acariens à une température de 37° C., BALFOUR a pu voir la transformation des formes granulaires en Spirochètes typiques. Si l'acarien est maintenu à une température de 15 à 20° C., les Spirochètes disparaissent de la cavité générale vers le 3^e ou 4^e jour après l'ingestion de sang virulent, tandis qu'une température de 37° C. produit la transformation des granules en Spirochètes. Il conclut, comme LEISHMAN, que la spirochétose des Poules serait transmissible par inoculation des formes

granulaires à l'exclusion des formes spirochéliennes. De plus, il y aurait une certaine analogie entre les Spirochètes et les Trypanosomes (*Try. brucei* et *Try. evansi*) en mettant en parallèle le rôle des granules chez ces deux organismes (1911 a).

Le travail de SCHUBERG et MANTEUFEL (1910) va à l'encontre de celui de BALFOUR. SCHUBERG et MANTEUFEL ont pu voir la destruction de *Sp. duttoni* dans l'intestin d'*Ornithodoros moubata* sans que les parasites eussent pénétré à l'intérieur d'un tissu ou organe quelconque.

Par contre, FANTHAM (1911) reprenant les expériences de LEISHMAN, confirme le travail de ce dernier et arrive aux mêmes conclusions sur l'évolution des Spirochètes en granules.

Les premières objections à cette hypothèse sont soulevées par BLANC (1911) dans sa thèse de médecine où il publie les résultats de ses recherches sur *Argas persicus* infecté par *Sp. nicolleti* Brumpt, Spirochète voisin de *Sp. gallinarum*. BLANC a vu apparaître des Spirochètes dans le liquide coelomique d'*Argas miniatus* conservés à une température de 37° C., après le repas infectant. Mais chez des tiques, infectées ou non, maintenues à cette température, BLANC a décelé des corpuscules analogues à ceux décrits par LEISHMAN chez des tiques infectées. Il les considère sans rapport avec le cycle évolutif des Spirochètes. « Il est permis de penser », écrit-il, « que les Spirochètes sont susceptibles de passer par une phase de virus filtrants ».

HINDLE (1911 a), décrit et figure le cycle évolutif de *Sp. gallinarum* chez la Poule et chez *Argas persicus*. Le savant anglais observe la division transversale des Spirochètes dans le sang de la Poule, et il suppose que les parasites, lors de leur disparition du sang circulant, se divisent en « corps coccoïdes » (coccoid bodies). Ce phénomène serait analogue à celui décrit par BALFOUR (1911 a, 1912) chez le même Spirochète. Le processus se produirait pendant la crise de la maladie ou à la suite d'un traitement médicamenteux.

Chez *Argas persicus* nourri sur une Poule infectée, les Spirochètes sont présents dans le liquide coelomique au bout de 2 à 48 heures après avoir traversé la paroi stomacale (expériences faites à une température de 28° C.); de là, ils gagnent les glandes salivaires et les gonades, puis disparaissent rapidement. Dans ces organes, ainsi que dans les tubes de Malpighi, ils deviennent intracellulaires et après s'être enroulés, se segmentent en prenant l'allure d'une chaîne de grains dans une paroi cellulaire transparente. Dans l'intestin, les Spirochètes se transforment en corps coccoïdes, un à deux jours après l'ingestion des parasites. Les formes spirochéliennes disparaissent de l'intestin en 3 à 10 jours selon la température. Les corps coccoïdes sont ronds ou ovalaires, d'un diamètre de 0,2 μ , se colorant comme la chromatine; de plus, ils sont capables de se disposer en amas à l'intérieur des

cellules et de se multiplier par division transversale, simulant ainsi la schizogonie. Les corps coccoïdes n'ont pu être cultivés.

Si la tique est maintenue à une température de 37° C., les corps coccoïdes se transforment en Spirochètes et en Bacilles fusiformes (!) et vers le 5^e jour, on peut observer, dit HINDLE, « des Spirochètes dans le liquide cœlomique, la lumière de l'intestin et tous les organes de la tique ». Ce phénomène avait déjà été constaté par l'auteur (1911) chez *O. moubata* infecté par *Sp. duttoni* et conservé à 35° C.

Chez la Poule, ni le développement des corps coccoïdes en Spirochètes, ni la transformation des Spirochètes en corps intracorporels de BALFOUR (1908) n'ont été observées.

Les formes de dégénérescence seraient constituées, en particulier, par la production d'un corps rond, d'apparence kystique (cyst like form) situé au milieu ou à l'extrémité du Spirochète.

Par suite de la transformation des Spirochètes typiques en granules, et réciproquement, le cycle évolutif se répéterait chez la tique infectieuse et chez la Poule. La température n'est pas sans jouer un certain rôle dans l'apparition et la disparition de *Sp. gallinarum* chez *Argas persicus* (1931).

MARCHOUX et COUVY (1912), reprenant les expériences de BORREL et MARCHOUX (1905) ont pu déceler des Spirochètes dans le liquide cœlomique d'*Argas persicus*, en quantité plus ou moins grande, chez 90 % des *Argas* conservés à 28° C. Ces parasites peuvent être typiques, d'autres peuvent être très grêles. Ces dernières formes, non colorables par le Giemsa, colorables par une surcharge de violet de gentiane, ne sont pas « des formes de dégénérescence » puisqu'ils sont capables de donner l'infection à une Poule. Les auteurs croient devoir ajouter : « Il s'en trouve de tellement grêles qu'ils sont à la limite de la visibilité et même d'autres qui la dépassent... (!) » (1933 b).

MARCHOUX et COUVY (1913) estiment que les granules signalés par LEISHMAN chez *O. moubata*, peuvent être décelés chez *Argas persicus* infecté ou non, et qu'ils sont sans rapport avec les Spirochètes. Bien mieux, ils ont toujours pu découvrir des Spirochètes, mais plus fins que ceux ingérés dans le liquide cœlomique d'*Argas* infectés. Vingt-quatre heures après la piqure, on voit chez *Argas persicus*, les Spirochètes perdre leur mobilité et se fragmenter. Vers le second jour, les formes de dégénérescence sont nombreuses (endoplasme gonflé avec formation de petites hernies latérales ou terminales). Vers le 4^e jour, apparaissent les formes d'involution (Spirochètes anormaux, fins, courts et trapus, mobiles, alors que les Spirochètes de dimensions normales sont fragmentés et sans mouvements). Enfin disparition des Spirochètes du 8^e au 12^e jour de la cavité digestive. La dissociation en granules est pour MARCHOUX et COUVY, « non pas un phénomène de multipli-

cation, mais une dégénérescence aboutissant à la mort du parasite ».

De plus, MARCHOUX et COUVY ont retrouvé les granules chez divers arthropodes non parasités par des Spirochètes : *Argas vespertilionis*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor reticulatus*, *Haemaphysalis concinna*, *Amblyomma variegatum*, *Ixodes ricinus*, *Laelaps echidninus*.

La nature des grains de LEISHMAN n'est pas encore déterminée, ce qui conduit MARCHOUX et son collaborateur, à penser que les granules de DUTTON et TODD, les granules de LEISHMAN n'ont rien de commun avec les Spirochètes, mais que ces formations sont des « symbiotes », en opposition au travail de TODD (1913, 1919) sur le « cycle évolutif de DUTTON » résumé plus haut.

Les mêmes auteurs (1913 a) ont constaté que les acini des glandes salivaires chez *Argas persicus* ne renfermaient pas de Spirochètes visibles alors que ces glandes, inoculées à un animal neuf, déterminaient l'infection. S'agit-il d'une forme intra-cellulaire infravisible ? Par contre, les canaux de ces mêmes glandes renfermaient des parasites. L'infection héréditaire serait assurée chez l'hôte invertébré, par l'intermédiaire des glandes céphaliques : lors de la ponte, l'œuf est humecté par le liquide sécrété par ces glandes céphaliques. Ainsi *Sp. gallinarum* passerait d'une génération à une autre. Mais mieux : l'œuf d'*Argas* renferme des « Spirochètes très minces... et d'autres plus fins encore, invisibles par les moyens d'exploration que nous possédons ».

WOLBACH (1914) confirme le travail de MARCHOUX et COUVY relatif aux granules décrits par LEISHMAN : les granules intra-cellulaires ne font pas partie du cycle des Spirochètes car ils ont été trouvés chez des tiques saines. Ces granules ont été colorés par WOLBACH par le colorant de Giemsa alcalinisé.

Sur des coupes, il a rarement constaté des formes intra-cellulaires; par contre, il a vu dans le tissu conjonctif de la tique, des formes enroulées et des formes enkystées, qui lui ont paru être un stade de repos ou de multiplication.

MARCHOUX et CHORINE (1930) ont montré que l'élévation de température de 1° à 2° chez la Poule, entre la 12^e heure et le 5^e jour, après avoir été piquée par des exemplaires d'*A. persicus*, est le seul signe de l'infection, avant l'apparition des formes hélicoïdales dans le sang. A ce stade, le sang des Poules ne présente aucun Spirochète typique, mais est toutefois infectant si on l'inocule à une Poule saine. Pendant la phase « aspirochétique » le virus serait présent dans le plasma sous une forme « infravisible » mais non filtrable.

Deux ans plus tard (1932), ces auteurs ont montré que le sang infectieux, en l'absence de toute forme spirochétique, peut être cultivé dans le milieu propre à la culture des formes hélicoïdales. Les cultures sont pathogènes pour la Poule et les « éléments ultramicroscopiques » sont incapables de traverser

les parois de la bougie Chamberland. Toutefois, les cultures sont repiquables en série et « augmentent de virulence au fur et à mesure des passages de tube à tube ». Des expériences ultérieures ont montré que cette forme infravisible était capable de traverser les filtres (1933) jusqu'au moment où les formes typiques apparaissaient dans les cultures (du 4^e au 20^e jour); et « la transformation s'opère avec une brusquerie, une soudaineté comme explosive ».

Ces expériences amènent MARCHOUX et ses collaborateurs (1933 a) à admettre l'existence d'un cycle évolutif de *Sp. gallinatum*, semblable à celui décrit par LEVADITI et ses collaborateurs pour *Treponema pallidum*.

En résumé, MARCHOUX et ses collaborateurs (1933 b) sont parvenus aux conclusions suivantes :

Sp. gallinarum est parfaitement cultivable dans le milieu de GALLOWAY (1925, 1926) modifié par adjonction de peptone et de glycogène, maintenu à un pH voisin de 7,5-7,7. Les Spirochètes en culture sont pathogènes pour la Poule et ne traversent pas les filtres (Chamberland L2, Berkefeld N, colloïdion). Les cultures réussissent aussi bien à partir de sang d'*Argas* qu'à partir de sang de Poule infectée. Les cultures de la forme infravisible à partir de sang de Poule ou de sang d'*Argas* — ne renfermant pas de formes spirochéliennes — sont capables de traverser les filtres, contrairement aux essais tentés en 1932, et sont pathogènes pour la Poule. Dès que les Spirochètes font leur apparition dans les cultures du virus infravisible, celui-ci cesse d'être filtrable. Prélevé dans le sang d'*Argas* ou de Poule, le virus perd la propriété d'être filtrable. La forme infravisible, intracellulaire dans les glandes salivaires d'*Argas*, est présente dans les cellules du foie et de la rate des Poules infectées par ce virus infravisible. « Ce virus, qu'aucun moyen d'exploration microscopique ne permet de mettre en évidence, appartient apparemment à la catégorie des germes infravisibles qu'on sépare, en général, par filtration ».

A la dose de 5.000 Spirochètes en culture, MARCHOUX, CHORINE et KOEHLIN (1935) ont réussi à infecter la Poule. La dose vaccinante varie entre 1.000 et 3.000 parasites, au-dessous, aucun phénomène ne se produit. Avec des cultures de 48 heures de *Sp. gallinarum*, au stade invisible, MARCHOUX, CHORINE et CROUGUE (1939) ont pu infecter la Poule avec une dose de 1/100^e de cc., tandis qu'ils ont échoué avec 1/10^e de mélange de 4 cc. de milieu et de liquide cœlomique de 5 *Argas*.

HATT (1929) par la méthode histologique des imprégnations à l'argent de LEVADITI, observe chez des nymphes d'*Ornithodoros moubata* préalablement gorgées sur un animal infecté par *Sp. duttoni*, la fragmentation des parasites ingérés, leur disparition et leur réapparition. Les parasites, deux heures après le repas infectant, se montrent anormaux, deviennent

intracellulaires (dans l'épithélium intestinal de l'insecte), se pelotonnent et se fragmentent. Après trois jours, les Spirochètes ont disparu mais les cellules en massue de l'épithélium intestinal sont remplies « de courts bâtonnets caractéristiques, souvent terminés à l'une de leurs extrémités par un granule, ainsi que des granules isolés ». Le même processus se produit dans la lumière intestinale. « Ces bâtonnets et granules résultent apparemment de la fragmentation des Spirochètes » par un processus brusque.

Chez *Ornithodoros savignyi* (Audouin, 1827) infecté par *Sp. hispanica*, HATT a noté une persistance plus longue des parasites et une fragmentation moins rapide. Les formes typiques se retrouvent au bout de 5 jours dans le tube digestif. « Des fragments de Spirochètes, écrit-il, sont même visibles dans le tube digestif vers le 20^e jour ». Mais vers le 26^e jour, le liquide coelomique fourmille de Spirochètes de 3 à 8 tours de spire.

Chez *O. savignyi* infecté par *Sp. duttoni*, c'est vers le 19^e jour que l'acarien est envahi par ces Spirochètes. Les parasites sont visibles dans les lacunes sanguines, les épithéliums, le tube digestif; ils ont des tours de spire lâches et « paraissent plus fins que les grands parasites du sang du Rat ». Il existe également des Spirochètes à un ou plusieurs renflements médians ou terminaux dans le tube digestif.

Chez *O. Savignyi* infecté par *Sp. normandi*, le même phénomène d'apparition des Spirochètes a été constaté par HATT.

Il suppose que ce processus se produit au niveau de l'épithélium intestinal comme l'ont constaté CH. NICOLLE et CH. LEBAILLY chez le Pou. Les granules ou bâtonnets feraient partie du cycle évolutif des Spirochètes chez l'acarien.

Enfin, dans l'ovaire d'*O. moubata* infecté par *Sp. hispanica*, HATT a vu un seul œuf rempli de Spirochètes et de granules. Ces petites formes, à leur tour, redonneraient des Spirochètes typiques.

KNOWLES, GUPTA et BASU (1927) ont vu dans l'intestin d'*Argas* infecté par *Sp. anserina* (= *Spirillum anserinum* Sakharoff, 1891) une multiplication des parasites par division transversale. Les Spirochètes formés seraient 1/3 plus courts et extrêmement grêles par rapport aux formes sanguicoles. Ces formes grêles ou « ténues » envahiraient le liquide coelomique où elles présenteraient un flagelle terminal bipolaire. Il serait possible de les déceler principalement dans les glandes salivaires où elles redonneraient des Spirochètes typiques.

En 1928 et en 1929, LEVADITI et ANDERSON n'ont pas décelé de Spirochètes typiques dans le névraxe des Souris inoculées avec *Sp. duttoni* (souche Brazzaville). Or, on sait qu'après avoir présenté trois ou quatre accès de fièvre récurrente, les Souris hébergent le virus dans le cerveau pendant de longs mois sous une forme différente de la forme sanguicole. Cette

découverte a été faite par BUSCHKE et KROO (1922). Ce virus invisible est incapable de traverser les filtres Chamberland L2 ou L3, peut-être, d'après les auteurs, parce qu'il est intracellulaire (?). Pour LEVADITI et ANDERSON, il y a un cycle évolutif de *Sp. duttoni* comportant une phase visible (sanguicole) et une phase invisible (névraxique) ou « forme de résistance ». Voici, résumées, les constatations de LEVADITI et ses collaborateurs (1929 a, 1930) : « le virus récurrentiel, habituellement à l'état ultramicroscopique ou infra-visible dans le névraxe virulent des animaux immunisés, peut, dans certaines conditions, achever son cycle évolutif et aboutir à la forme spirillaire ».

STREMPER et ARMUZZI (1927) auraient vu des formes dégénérées de Spirochètes récurrents dans la rate, le foie et dans les hématies d'animaux inoculés, mais non dans les cerveaux virulents d'animaux immuns.

Par contre, EBERSON et MOSSMAN (1931) disent avoir vu des phases évolutives depuis le granule jusqu'au Spirochète, dans les hématies d'animaux inoculés avec *Sp. hispanicum* var. *maroccanum*. Ils ont employé pour ce faire, la méthode de la goutte pendante.

Dans une étude faite sur *O. tholozani*, Laboulbène et Megnin, 1882 (= *O. papillipes*, Birula, 1895) infecté par le Spirochète de la fièvre récurrente mondiale (souche de Bocharan), MOSKWIN (1929) n'a pas pu déceler de formes hélicoïdales dans les tissus de la tique même le 12^e jour après le repas infectant. Dans le tube digestif, l'auteur a vu tous les stades jusqu'aux formes granulaires, ainsi que des formes en kyste (HINDLE, 1911) dans les tubes de Malpighi, les glandes salivaires et les ovaires. MOSKWIN a pu reproduire la maladie chez le Cobaye par inoculation de ces différents organes.

Depuis les travaux de SERGENT et FOLEY (1908, 1910), de SERGENT, GILLOT et FOLEY (1911, 1911 a) et ceux de CH. NICOLLE et ses élèves, on sait que la fièvre récurrente cosmopolite est transmise par les Poux (*Pediculus corporis* et *Pediculus capitis*). La spirochètose à *Sp. recurrentis* est transmise par « l'écrasement du Pou et non par sa piqûre ». SERGENT et ses collaborateurs ont constaté que des Poux broyés, au sixième jour après un repas infectant sur un malade, pouvaient être infectants pour le Singe, alors que les examens microscopiques ne montraient la présence d'aucun germe hélicoïdal.

SERGENT et FOLEY (1914) reprennent les études faites antérieurement par CH. NICOLLE, BLAIZOT et CONSEIL (1912 a, 1913) sur des Poux (nourris sur des sujets sains) après leur repas infectant. Des frottis de broyat de Poux sont colorés au Giemsa et examinés régulièrement. « Pendant les huit jours qui suivent le repas infectant, écrivent SERGENT et FOLEY, le corps des Poux ne contient pas de spirilles; ceux-ci

réapparaissent ensuite »... Pendant la phase d'invisibilité, le virus est infectant : « Nous sommes donc conduits à admettre que le virus de la fièvre récurrente, outre sa forme spirillaire, peut revêtir une autre forme très petite également virulente. ... L'évolution de cette forme très petite dure chez l'Homme, comme chez le Pou, huit jours en moyenne ».

MACKIE (1907, 1907 a, 1912) avait pressenti le rôle du Pou dans la transmission de la fièvre récurrente cosmopolite. Il a vu au contraire une intense multiplication des parasites dans le corps de cet arthropode, principalement dans la cavité stomacale, pour cesser le 8^e jour. Les parasites gagneraient les glandes salivaires et les gonades.

Mais les remarquables travaux de CH. NICOLLE et ses collaborateurs (1912, 1913, 1914, 1920, 1927) viennent à l'encontre de l'hypothèse soutenue par MACKIE.

CH. NICOLLE, BLAIZOT et CONSEIL (1912, 1912 a, 1913, 1913 a) étudient le Spirochète de la fièvre récurrente nord-africaine, *Sp. berbera* (Sergent et Foley, 1910) et montrent clairement que le Pou est l'agent de la transmission de la maladie, par écrasement et non par piqûre comme nous l'avons déjà dit. Chez des Poux infectés et conservés dans une chambre humide à 28° C., CH. NICOLLE et ses collaborateurs ont vu le nombre des parasites diminuer, puis perdre leur mobilité et dégénérer ensuite. L'emploi de l'ultramicroscope ne leur a pas permis de déceler de Spirochètes du 1^{er} au 8^e jour après le repas infectant. Vers le 8^e (et même le 11^e et 12^e) jour, les Spirochètes réapparaissent, « d'abord minces et moins longs que ceux du sang, puis ils leur deviennent identiques ». Leur persistance dure jusqu'au 19^e jour. La phase aspirochétiqne est virulente; le virus se présenterait sous « une forme inconnue et invisible » (1912 b). Les nouvelles formes spirochétiennes sont localisées dans la cavité lacunaire et « n'envahissent point l'appareil buccal, ses dépendances ou le tube digestif » (1913).

CH. NICOLLE et BLANC (1914, 1914 a) ont pu reproduire la maladie avec le produit du broyage des Poux « à la période qui précède immédiatement la réapparition des spirilles, c'est-à-dire à un stade invisible de l'évolution de ceux-ci ». La phase invisible durerait jusqu'au 6^e jour et non plus jusqu'au 8^e jour comme ces savants l'ont publié dans leurs premières recherches.

CH. NICOLLE et LEBAILLY (1920), par la méthode des coupes histologiques (imprégnation argentique des tissus) étudient le cycle évolutif des Spirochètes chez le Pou infecté par le Spirochète de la fièvre récurrente. Les Poux sont conservés à une température de 28° à 30° C.

Une heure après le repas infectant, les parasites sont très nombreux, puis ils diminuent en nombre progressivement. Dans l'intestin antérieur, « les Spirochètes s'orientent vers

les cellules épithéliales et on constate la présence d'un certain nombre d'entre eux dans leurs interstices ». D'autres deviennent intra-cellulaires. Il en est d'autres qui sont extra-cellulaires, au niveau de l'intestin moyen et postérieur. Mais dès la 40^e heure jusqu'au 5^e jour, les Spirochètes sont invisibles. Ils réapparaissent vers le 6^e jour dans les espaces sanguins et dans les pattes et les antennes. Ces nouveaux parasites, de même longueur que les formes sanguicoles, sont toutefois un peu moins larges. Malheureusement, il a été impossible à ces savants de suivre le cycle évolutif complet chez le Pou, par suite de la présence de pigment sanguin dans les cellules épithéliales de l'intestin antérieur; « Nous ignorons, écrivent-ils, totalement, faute d'examen prolongés assez longtemps (condition qui semble bien difficilement réalisable en pratique) si le Pou conserve ou non indéfiniment ses parasites et, au cas où il les conserverait, si cette persistance a lieu sous une forme visible ou invisible »... « La persistance indéfinie est l'hypothèse la plus plausible »...

CH. NICOLLE (1927) résume ses recherches antérieures et admet chez l'Homme et chez le Pou, l'existence :

« D'un premier stade invisible de forme inconnue (granulation indifférente), stade dépourvu de virulence, mais représentant sans doute la forme de conservation et de résistance »;

« D'un stade prévisible qui correspond à des Spirochètes déjà formés, mais si fins qu'ils échappent encore à nos moyens d'investigation. » Ce stade est pathogène.

« D'un stade de Spirochètes typiques, que la virulence abandonne à mesure que leurs dimensions croissent et qui aboutissent à un type adulte, dépourvu de virulence » (forme ancestrale, saprophytique).

Dans des cultures pures, âgées de 15 jours, en milieu bouillon-sérum-rein de Lapin, SÉGUIN a figuré, le premier, l'« ultravirus spirochétique », autrement dit le granule spirochéto-gène, de *Sp. gallinarum* (1930 a). A côté du granule spirochéto-gène proprement dit, SÉGUIN a décrit des formes à 2, 1, 1/2 tours de spire munies d'un filament terminal. « Il y a lieu, écrit l'auteur, de rechercher des formes semblables dans l'organisme des Arthropodes piqueurs qui transmettent la spirillose des Poules et la fièvre récurrente ». L'auteur se demande même si ces formes ne seraient pas responsables de la virulence du sang des Poules, en l'absence des formes spirochétiques normales, comme l'a montré MARCHOUX.

Dans un travail plus récent (1939-1940), SÉGUIN fait ressortir la grande ressemblance des spirochéto-gènes sanguicoles (*gallinarum*, *duttoni* et *hispanica*) (Pl. VI, fig. 23 et 24).

A propos du cycle évolutif de *Sp. hispanicum*, var. *maroccanum* (souche Tetuan), REMLINGER et BAILLY (1929, 1930)

arrivent aux mêmes conclusions que CH. NICOLLE et ses collaborateurs : « Seule la forme invisible est pathogène, la forme visible n'étant qu'un rappel ancestral du type saprophyte ».

NOGUCHI (1912 c) dans des cultures pures de *Sp. gallinarum* a observé, sans en préciser la signification : 1° des corps sphériques de $0,75\ \mu$ de diamètre, nombreux dans les cultures âgées; 2° des granules ronds ou ovoïdes de $0,3-0,2\ \mu$, incapables de produire l'infection quand ils sont inoculés au Poulet et incapables de se multiplier *in vitro*. Ces granules pourraient être considérés comme des formes de dégénérescence.

Chez *Sp. duttoni* et chez *Sp. obermeieri*, en cultures pures, NOGUCHI (1912 b) a décrit des corps sphériques (pseudospores) et des masses protoplasmiques irrégulières.

COLES (1936) chez *Sp. duttoni* et *Sp. anserina*, a vu la formation de granules à partir des Spirochètes. Ces granules seraient infectants.

Dans son traité de Parasitologie, le P^r BRUMPT (1936) rappelle ses recherches faites chez *Ornithodoros moubata* infecté par *Sp. duttoni* : vers le 10^e jour, après le repas infectant, des « formes métacycliques, différentes des formes sanguicoles » font leur apparition; « elles sont plus grêles, plus petites, plus faiblement colorables, leurs tours de spire sont plus irréguliers; enfin elles sont extrêmement mobiles » (p. 121). Ces formes proviendraient, non pas des granules de LEISHMAN, mais de « granules ou de germes invisibles ». On sait, en effet, que les granules de LEISHMAN ont été retrouvés chez des animaux non infectés par MARCHOUX et COUVY, WOLBACH, BRUMPT.

BRUMPT (1936, p. 140) inocule à des Souris des broyats de nymphes d'*Ornithodoros turicata* (A. Dugès, 1876) infectées par *Sp. turicatae* (Brumpt, 1933) et conservées à 25° C. « Depuis la 24^e heure jusqu'au 16^e jour », il n'a pas été noté de « période négative d'incubation » : toutes les inoculations ont été positives. « Ces résultats, écrit le P^r BRUMPT, sont identiques à ceux qui ont été obtenus pendant un temps moins long par KLEINE et KRAUSE » (1932 a). Ces deux chercheurs n'ont pas constaté de période négative chez *O. moubata*, infecté par *Sp. duttoni*, qui a toujours transmis la spirochètose à la Souris (1932, *contra* CH. NICOLLE et ses coll.). Pour KLEINE et ECKARD (1913), de même que pour KLEINE et KRAUSE, les granules rencontrés chez *O. moubata* seraient sans rapport avec les Spirochètes.

Ajoutons enfin, que si les formes métacycliques n'ont pas été rencontrées par BRUMPT chez *O. erraticus* (Lucas, 1849) infecté par *Sp. hispanica* (de Buen, 1926), elles l'ont été chez *O. venezuelensis*, Brumpt, 1921, infecté par *Sp. venezuelensis*, Brumpt, 1921.

BONÉ (1938) a toujours pu déceler les Spirochètes de DUTTON, chez *O. moubata*. En conséquence, il se range à l'opinion

de LAN CHOU FENG et HUEI LAN CHUNG (1936) qui n'admettent pas de cycle évolutif de *Sp. duttoni* chez l'acarien. Plus récemment, BONÉ (1939), étudiant la transmission héréditaire de *Sp. duttoni* chez l'acarien vecteur, pense que l'infection se fait « par le passage de Spirochètes dans les œufs et non, comme certains le prétendent, sous une forme invisible ou sous forme de granules ». Les Spirochètes nombreux et courts que BONÉ a vus dans l'haemocoèle (1939 a) chez l'Ornithodore préalablement infecté et nourri sur un animal neuf, n'auraient pas « pour origine une libération des parasites ayant effectué un cycle intracellulaire dans l'estomac, mais bien une multiplication des Spirochètes présents dans ce liquide avant le repas ».

BONNIN et JEANSOTTE (1940) rapprochent la forme involutive ou granulaire de CH. NICOLLE et ses collaborateurs (*Sp. recurrentis*) de la forme neurotrope de *Sp. duttoni* décrite par LEVADITI et ses élèves.

IV. — Spirochètes intestinaux des Termites

Si, après avoir prélevé l'intestin des Termites et l'avoir dilacéré pour l'émulsionner dans quelques gouttes d'eau physiologique ou mieux d'eau de mer diluée au 1/4, on pratique un examen au fond noir entre lame et lamelle, on est frappé par l'abondance et la grande variété de Flagellés, Spirochètes et Fusiformes parfaitement mobiles. Ces protistes peuvent être libres, mais depuis les travaux de DUBOSCQ et GRASSÉ (1938) on sait que Spirochètes et Fusiformes peuvent être rencontrés soit dans le cytoplasme de certains Flagellés, soit à la périphérie et dans ce cas simulant des cils vibratiles.

Ici encore, faute de posséder des cultures pures de Spirochètes parasites de l'intestin des Termites, l'étude du cycle évolutif de ces parasites a été faite uniquement sur l'examen des frottis colorés après fixation.

Dès 1881, LEIDY signale la présence de Spirochètes chez *Reticulitermes flavipes*. DOBELL (1912) décrit chez *Calotermes militaris* deux variétés de Spirochètes : *Treponema termitis*, Leidy, 1881 (emend. Dobell, 1912) et *Treponema minei*, Prowazek, 1910 (emend. Dobell, 1912).

L'étude de ces microorganismes en a été étendue par S. R. DAMON (1926), qui signale à son tour la présence de Spirochètes chez divers Termites.

Mais l'étude cytologique des parasites intestinaux des Isophtères a été poussée par HOLLANDE (1922) chez *Reticulitermes lucifugus*, Rossi. HOLLANDE décrit les deux variétés précitées et range *Tr. termitis* Leidy dans le genre *Cristispira*, par suite de la fausse membrane ondulante qui adhère à ce parasite. HOLLANDE n'a jamais noté chez *Tr. termitis* Leidy ni cils, ni

corps coccoïdes, ni formes d'enkystement, mais par contre, il a signalé la formation, en dehors des vacuoles et de rares grains sidérophiles situés dans le protoplasma du parasite, d'un organe particulier ou « schizoplaste » au niveau du point de division transversale. A la partie médiane de *Cr. termitis*, se forme un corpuscule sphérique. Ce corpuscule ou « schizoplaste » se colore en rouge par la méthode de Mann, modifiée par HOLLANDE (1922) et serait constitué « par un épaissement progressif de la paroi externe (périplaste ?) et non des cloisons transverses qui manquent le plus souvent en ce cas ». Au fur et à mesure que progresse le processus de division, le corpuscule s'allonge, devient ovoïde, s'étire et se « subdivise en deux corpuscules égaux » reliés par un fin tractus. Plus le stade de division est avancé, moins les corpuscules deviennent visibles par l'action de l'hématoxyline ferrique ou du Mann. *In vivo*, le corpuscule se présente sous la forme d'un globule ou d'une vacuole. « J'ai retrouvé la présence d'un tel corpuscule de division chez des Spirochètes autres que ceux des termites (Sp. de la bouche de l'homme, par exemple); il me paraît devoir être comparable aux formations observées par Mlle M. ZUELZER (1911) avant et pendant la division de *Sp. plicatilis* et de *Sp. ictero-hemorrhagiae*, bien que ces formations semblent d'après cet auteur, se former sur le filament axial, constitué sans doute, à mon avis, par de la métachromatine et non par de la chromatine » (HOLLANDE, 1922).

Treponema minei Prowazek, parasite de l'intestin de *Calotermes militaris*, de *Reticulitermes lucifugus*, de *Calotermes flavicollis*, se divise transversalement. HOLLANDE a également étudié ce parasite et a signalé une fausse membrane ondulante ou « fascea » et un schizoplaste très net. Les formes en C, en S et enroulées seraient, pour ce savant, des stades d'un état prékystique.

Par contre, chez *Sp. leucotermis* n. sp. Hollande, le schizoplaste n'a pu être mis en évidence à cause du faible diamètre du parasite.

DUBOSCQ et GRASSÉ (1927) décrivent trois formes de Schizophytes dans l'intestin de *Calotermes* (*Glyptotermes*) *iridipennis* Froog. La grande forme, rapportée à *Cr. termitidis* Leidy présente une membrane ondulante (fascea de HOLLANDE) très nette. La division transversale « se fait au niveau d'un corpuscule chromatique ou schizoplaste, ce qui est un caractère bactérien, ce mode de division ayant été découvert par SCHAUDINN (1902) chez *Bacillus Bütschlii* ». Les formes enroulées seraient des formes en voie de fragmentation et de dissolution.

Le second parasite, ou *Tr. spermiformis* n. sp., voisin de *Tr. minei* Prowazek, présente deux segments très nets : l'un peu colorable, l'autre plus gros et plus facilement colorable. Entre les deux segments se trouve un point chromatique.

DUBOSCQ et GRASSÉ n'ont pas pu déterminer la nature de cette différence de colorabilité : « les petites formes ont la structure des grandes et les deux segments ne sont pas rigoureusement de la même longueur. Le segment colorable est toujours un peu plus court que le segment achromatique ».

Le troisième Schizophyte étudié par ces auteurs est une petite forme : *Tr. Hilli* Duboscq et Grassé, simulant des cils à la périphérie de *Devescovina Hilli*, et difficilement colorable.

Ajoutons enfin que les auteurs se refusent à admettre la transformation des Spirochètes en Fusiformes comme l'ont signalé TUNNICLIFF (1906, 1923), SCHMAMINE (1912), SANARELLI (1927), mais croient voir pour chaque espèce de Spirochète décrite, un Fusiforme lui correspondant. Bien que cette observation ne se soit pas encore généralisée, nous signalerons à ce propos, que P. SÉGUIN a fait des constatations (inédites) analogues pour les Spirochètes buccaux commensaux chez l'Homme. Nous-même, dans les études que nous avons faites chez les Termites (coloration par la technique d'imprégnation argentique de Séguin), nous avons pu voir diverses espèces de Fusiformes, toutefois il ne nous a pas paru qu'à chaque Spirochète correspondît un Fusiforme, symbiote propre. En effet, le nombre des microorganismes hélicoïdaux est de beaucoup supérieur à celui des Fusiformes.

V. — Spirochètes des Mollusques

Dans l'intestin et la tige cristalline des Mollusques, vivent à l'état saprophytique, de très nombreux Spirochètes. Chez les Huitres, on peut les déceler dans un grand pourcentage à condition d'opérer chez des animaux frais et au cours de certains mois de l'année seulement. Les dimensions de ces microorganismes sont très grandes par rapport aux Spirochètes sanguicoles, aux Spirochètes commensaux de l'Homme, aux Spirochètes des Poissons. Ils présentent, de plus, une fausse membrane ondulante ou « fascea » (HOLLANDE) insérée le long du corps et allant de l'extrémité antérieure à l'extrémité postérieure du parasite. Cette formation les a fait ranger dans un genre nouveau ou *Cristispira*.

Parmi les nombreux *Cristispires* qui ont été signalés, nous ne retiendrons dans cette étude que ceux dont la biologie a été le plus fouillée, pour laisser de côté l'étude cytologique.

CERTES (1882) découvre un microorganisme hélicoïdal dans l'estomac et la tige cristalline de l'Huitre, et range ce parasite parmi les Trypanosomes (1891) à cause de la « membrane ondulante » qui adhère au cytoplasma de ce protozoaire. D'où le nom de *Trypanosoma balbianii*.

H. B. FANTHAM (1907) le nomme *Spirochaeta (Trypano-*

soma) balbianii, nom qui avait été déjà donné par BORREL et CERNOVODEANU quelques mois auparavant. Un an plus tard SCHELLACK reprend l'étude de ce parasite. En 1921, NOGUCHI en fait une étude complète et analyse les travaux de ses prédécesseurs.

Depuis la découverte de CERTES, de nombreux chercheurs ont essayé de trouver une position systématique aux Cristispires. Pour LAVERAN et MESNIL (1901) cet organisme ne serait pas un Trypanosome, mais vraisemblablement une Bactériacée.

Quoi qu'il en soit, on ne peut que les ranger dans un genre voisin des Spirochètes : mouvement hélicoïdal, absence de cils, absence de polarité dans le mouvement, etc.

Les genres *Cristispira* et *Spirochaeta* « peuvent être légitimement remis dans un voisinage immédiat et il n'est pas interdit de voir dans la fascea des cristispires l'équivalent de l'axe longitudinal qui a été mis en évidence avec plus ou moins de facilité dans les Spirochètes proprement dits » (LAVIER, 1935).

Les formes d'enkystement ont été observées par PERRIN (1905, 1906) chez *Sp. balbianii* Certes. A côté de ces formes il y aurait, ajoute l'auteur, des formes de conjugaison et des formes indifférentes. Les individus de grandeurs différentes ont été interprétés par Perrin comme des gamètes mâles et femelles. Mieux, le phénomène d'enkystement serait précédé d'une réduction chromatique (!).

H. B. FANTHAM (1907, 1908, 1914) admet pour *Cr. balbianii* deux modes de division : longitudinal et transversal. Mais c'est surtout l'évolution des corps coccoïdes qui a attiré son attention : le protoplasme du parasite se condenserait au niveau des masses chromatiques, produisant ainsi une série de segments continus à l'intérieur de la gaine périplasmique. Après rupture de cette gaine, les granules seraient mis en liberté.

Il est intéressant de rapprocher cette transformation chez *Cr. balbianii* de celle décrite par le même auteur (1909) chez les Spirochètes sanguicoles et chez *Sp. bronchialis* (1915) et qu'il a considérées comme un phénomène de sporulation.

Chez *Cr. balbianii* et chez *Cr. anodontae* Keysseltz, les grains basaux ont été étudiés par FANTHAM (1908), GONDER (1912), PORTER (1909, 1910). Ces grains seraient bien visibles avant la division du parasite.

En 1910, FANTHAM, reprenant l'étude de *Cr. Balbianii* Certes, retrouvé dans la tige cristalline de *Tapes decussatus* et de *Tapes pullaster*, en distingue plusieurs espèces chez *Tapes aureus*. La multiplication s'opérerait suivant un cycle analogue à celui décrit pour les Spirochètes sanguicoles : la division transversale alternerait avec la division longitudinale, sans qu'il y ait une différence sexuelle entre les deux

parasites. Le même auteur a observé (1911) la formation de pseudo-kystes à la suite d'un enroulement du parasite sur lui-même ou à la suite d'un gonflement de la région médiane (c'est le kyste plasmatique de FANTHAM).

Chez *Cr. anodontae* Keysselitz 1906, BOSANQUET (1911) a observé et figuré la formation de spores à l'état de repos (resting spores). Ces spores se formeraient aux dépens de la chromatine (chromidies diffuses dans le protoplasme). Chaque cavité comprise entre deux septa protoplasmiques donnerait naissance à une spore. Enfin, pour BOSANQUET, les images de PERRIN ne sont pas assez convaincantes pour leur accorder l'interprétation que veut leur donner ce dernier.

Miss A. PORTER (1909-1910) n'a jamais constaté *in vivo* l'enkystement de *Cr. anodontae*, mais simplement un enroulement du parasite sur lui-même. La division transversale se ferait au niveau d'un point nodal situé dans la région médiane du corps du parasite.

GONDER (1908, 1909) signale chez *Sp. pinnae* Gonder 1908, parasite de la tige cristalline de *Pinna nobilis* et de *Pinna squamosa*, la division longitudinale ainsi que celle des blépharoplastes ou noyaux basaux. Ces blépharoplastes, colorables en rouge par le Giemsa, en noir par l'hématoxyline ferrique de Heidenhain, sont situés aux extrémités antérieure et postérieure de *Sp. pinnae* et sont en rapport avec la membrane ondulante (GONDER). La chromatine serait disposée de telle sorte que les deux parasites en voie de séparation, en aient une égale quantité.

L'auteur ajoute que la division longitudinale débute par la segmentation d'un premier noyau basal et se termine par celle d'un second noyau basal après bipartition de tout l'organisme. C'est ainsi que GONDER (1909) figuré deux parasites reliés l'un à l'autre.

Un second mode de reproduction par « copulation » pourrait avoir lieu par union de deux parasites de sexes opposés (1912). Enfin, GONDER a signalé la formation d'un kyste par enroulement d'une extrémité de *Sp. pinnae*, produisant ainsi une diminution de sa longueur.

Ce processus d'enroulement a été vu par SCHELLACK (1909) entre autres chez *Sp. spiculifera*, parasite d'*Anodonta mutabilis*. Il le nomme « einrollungstadium ». BLANC (*loc. cit.*) admet la possibilité de la production d'un kyste, mais pour PETTIT (*loc. cit.*), ces formes d'involution et de reproduction seraient douteuses.

En étudiant *Cr. veneris*, DOBEL (1911) n'a jamais observé de formes en gamètes, de formes de conjugaison ni de formes d'enkystement. Pour lui, les kystes décrits par PERRIN et d'autres chercheurs seraient des produits de dégénérescence ou de plasmolyse. De plus, les Spirochètes (1912) ne présenteraient jamais de polymorphisme et leur cycle serait très simple.

Chez *Sp. anodontae*, parasite de la tige cristalline d'*Anodonta cygnea*, DOBELL (1911) a vu la formation de granules selon le mode décrit par LEISHMAN, HINDLE, FANTHAM, BALFOUR; mais il craint que ce ne soit là le résultat d'expériences faites dans de mauvaises conditions. Par contre, ce savant n'a jamais observé de spores comme l'a décrit BOSANQUET (1911), ni de formes mâles ou femelles (1912 a).

SWELLENGREBEL (1906, 1907) a vu la division transversale chez *Sp.* (= *Cristispira*) *balbianii*, sur des frottis fixés au formaldéhyde à 35 % et colorés par le Giemsa ou par l'hématoxyline ferrique de Heidenhain. Ce processus « commence par la formation de deux granules, au milieu de la cellule, qui ne sont vraisemblablement que des proéminences de la membrane de la cellule. En ce point, celle-ci présente un renflement. A un second stade, les deux granules se sont réunis et forment maintenant une paroi qui divise la cellule en deux »... La cellule s'étrangle ensuite jusqu'à la séparation des deux nouveaux parasites. Après avoir fait un parallèle entre ce mode de division chez *Cr. balbianii* et celui qui a lieu chez les Bactéries, SWELLENGREBEL rapporte avoir vu des formes de division transversale atypiques, mais ces images, dit-il, sont trop douteuses pour qu'il puisse les interpréter.

A propos de la division longitudinale, il conclut qu'un tel processus résulte d'un enroulement de deux parasites.

A côté de ces formations, SWELLENGREBEL a décrit le phénomène de macération qu'il interprète comme produit de dégénérescence, alors que PERRIN (*loc. cit.*) en fait des stades de formation de gamètes mâles. Les « boules » protoplasmiques, d'un diamètre de 2 à 8 μ , situées dans la région polaire ou médiane du parasite, ne sont, ajoute-t-il, que des « produits d'un gonflement local, accompagné d'une chromatolyse pathologique de la cellule ». Les boules elles-mêmes renferment des granules qui se colorent fortement. Elles ressemblent aux « kystes » décrits par PERRIN. Enfin, le stade d'enroulement ou « stade prékystique » de PERRIN précède, selon SWELLENGREBEL, le stade de « boules protoplasmiques », terme ultime de la dégénérescence.

HÖLLING (1907), étudiant *Spirillum giganteum* Migula et *Cristispira balbianii*, considère la plasmolyse comme un état de dégénérescence. L'auteur, qui a cru voir chez ces parasites, la division longitudinale, rappelle que ce mode de fragmentation a été signalé par PERRIN, KEYSSELITZ, SCHAUDINN. Il considère que les « boules » décrites par SWELLENGREBEL sont tout à fait différentes de celles étudiées par PERRIN, et qu'elles constituent la forme de conservation des Spirochètes. L'enkystement aurait lieu après division des parasites, d'après HÖLLING.

A cette hypothèse, SWELLENGREBEL (1909) objecte que la plasmolyse résulte de la transformation du protoplasme qui se divise, et maintient que les formes de dégénérescence sont

constituées soit par les « boules » soit par les effets de la macération.

HELLMANN (1913) signale le phénomène d'enkystement chez *Sp. caesirae septentrionalis* Hell. et chez *Sp. caesirae retortiformis* Hell., parasites des sacs urinaires de deux espèces de Molgules.

Rappelons que Mlle ZUELZER (1911) a décrit chez *Sp. plicatilis* Ehrenberg, 1832, 1838 (vivant dans la vase d'eau douce et d'eau de mer), un épaissement du filament axile avant la division transversale. Ce corpuscule se diviserait à son tour en deux corpuscules nouveaux. La division des Spirochètes pourrait être simple ou multiple selon qu'il y a formation de deux ou de plusieurs tronçons, comme l'avaient déjà remarqué SCHAUDINN (1907), HARTMANN et MÜHLENS (1908).

Cette digression étant faite, nous allons résumer les recherches de HOLLANDE (1924) sur *Cr. tapetos* Schellack, parasite de *Tapes decussatus*.

Sur des préparations humides, fixées pendant 30 secondes aux vapeurs d'acide osmique à 2 %, mises en contact durant 24 heures dans le liquide fixateur cupro-picro-formol acétique (1918) et colorées selon une technique particulière, l'auteur n'a pu voir ni la formation du schizoplaste lors de la division transversale, ni la formation de spores selon le mode décrit par FANTHAM (*loc. cit.*).

HOLLANDE a constaté d'une part que la division se faisait par un épaissement de la paroi externe (périplaste ?), puis par cloisonnement de cette membrane; et d'autre part que dans le cytoplasme, il existait des granules sidérophiles, de taille variable et qui seraient « des conglomerats de substance nucléoplasmique ou des produits de dégénérescence ».

Mais c'est surtout la description d'un processus particulièrement intéressant au point de vue biologique qui retiendra notre attention. Il s'agit de l'enkystement de *Cr. tapetos*.

Le parasite s'enroule sur lui-même, se pelotonne, sans présenter aucun des phénomènes suivants : réduction chromatique, division d'un karyosome, etc., et que HOLLANDE interprète comme des artefacts. Le parasite sécrète autour de lui une substance « d'aspect muqueux, transparente et difficilement perceptible au début ». *Cr. tapetos* s'immobilise progressivement au fur et à mesure que la substance sécrétée s'épaissit. Ce mode d'enkystement est parfaitement comparable à celui décrit par le même auteur chez *Cristispirella caviae*, parasite de l'intestin du Cobaye (1921). Le kyste, formé pour permettre au parasite de se préserver des conditions néfastes en présence desquelles il se trouve... serait une forme durable permettant à ce dernier d'attendre des conditions nouvelles meilleures et favorables à son entretien et à son développement.

VI. — Spirochètes intestinaux des Poissons de Mer

La meilleure étude qui ait été faite sur la biologie des Spirochètes des Poissons de Mer, est sans conteste celle de DUBOSCQ et LEBAILLY, parue en 1912 dans les Archives de Zoologie expérimentale et générale. Depuis cette date aucun travail important n'a été publié concernant le cycle évolutif de ces microorganismes. Dans ce mémoire, les auteurs, au lieu de rechercher les parasites dans le sang, se sont efforcés de les découvrir dans la portion terminale du tube digestif d'un grand nombre de Poissons de Mer. Tous les Poissons ne sont pas parasités, et même, parmi les espèces les plus communément infestées, il y a toujours un pourcentage qui ne l'est pas. Cependant, en règle générale, DUBOSCQ et LEBAILLY ont pu déceler les Spirochètes chez les Poissons bons nageurs (Gadidés et Scombridés).

Les techniques employées sont celles de l'imprégnation argentique de Cajal modifiée, la technique des frottis fixés et colorés à l'hématoxyline ferrique ou au Giemsa ou encore au Loeffler, enfin la technique du fond noir. Les Tréponèmes se trouvent en grand nombre dans le mucus qui remplit le rectum et leur morphologie est variable selon l'espèce étudiée (1912 a).

Nous laisserons de côté la description morphologique des divers Spirochètes étudiés, pour ne décrire que le processus de division. DUBOSCQ et LEBAILLY ont vu, sur le protoplasme des Spirochètes, un, deux ou trois grains chromatiques. Généralement, ce grain est médian quand il est unique; mais quand ils sont multiples, ils sont répartis dans diverses régions du protoplasme du Spirochète. La division transversale se ferait toujours à ce niveau : « ce grain se vacuolise en s'allongeant, pendant que la matière chromatique se tasse aux pôles de cette vacuole ellipsoïdale. La résorption de la paroi équatoriale de la vacuole déterminerait, sans étirement, la séparation des deux Spirochètes ». La division peut être simple ou multiple. Ce dernier mode qui donne naissance à des formes vibrioniennes a été bien observé chez *Tr. cotti* Duboscq et Lebailly parasite du Chabot (*Cottus bubalus* Euphr.). La division multiple, transversale, se ferait « dans des conditions défectueuses » aux dépens des formes longues typiques.

L'étude des formes d'enroulement et des anneaux est particulièrement intéressante. Nous avons vu que ces formations peuvent s'observer chez divers Spirochètes et nous nous réservons de discuter l'interprétation que les différents chercheurs en ont donnée.

Pour DUBOSCQ et LEBAILLY, voici comment se formeraient les anneaux :

— Soit « aux dépens de longues Spirochètes se bouclant en plusieurs tours destinées à se fusionner »;

— Soit « aux dépens de formes courtes, vibrionniennes, dont les extrémités se rapprochent et s'unissent ».

Au début, les anneaux sont largement ouverts et il est possible d'y voir « le ou les corpuscules chromatiques qui existaient dans la Spirochète avant l'enroulement ». Bientôt ces anneaux deviennent de plus en plus petits et « se condensent en une petite masse n'ayant plus en son centre qu'un petit orifice ». Ces formes se colorent fortement. Les formes d'enroulement se retrouvent dans les stades intracellulaires des parasites : formes en boucles, anneaux plus ou moins réguliers, anneaux épais, anneaux condensés. Quelques-uns montrent « un corpuscule punctiforme au centre de l'ouverture ».

Sans pouvoir décider s'il s'agit là de formes de dégénérescence, de stades de repos ou de formes d'enkystement, DUBOSCQ et LEBAILLY pensent que ces stades sont vraisemblablement des formes schizogoniques, capables de redonner des formes vibrionniennes, comme le feraient les corps coccidies décrits par LEISHMAN, BALFOUR, HINDLE, FANTHAM. Ces anneaux seraient le résultat d'un phénomène de défense du parasite placé dans des conditions défavorables.

Dans le sang de *Gadus pollachius* L., HENRY a signalé en 1910 la présence d'un organisme hélicoïdal qu'il a appelé *Spirochaeta pollachii*. Pour DUBOSCQ et LEBAILLY, ce parasite serait identique à *Treponema fallax* D et L. 1912.

HENRY (1912) a observé aussi bien dans le sang veineux de *Gadus pollachius* que dans celui de la Sole, la formation d'inclusions à l'intérieur des hématies. Ces inclusions sont, dit-il, semblables à celles vues par BALFOUR dans les hématies de la Poule infectée par *Sp. gallinarum*. Ce seraient donc des inclusions évolutives intracellulaires.

DEUXIEME PARTIE

Etude critique

CHAPITRE PREMIER

Si la partie historique peut sembler un peu longue, elle nous a cependant paru nécessaire pour essayer de mieux faire comprendre l'état de nos connaissances sur le cycle évolutif des Spirochètes. La lecture de cette énumération laisse entrevoir le manque de clarté qui existe dans l'interprétation et le rôle attribué aux diverses formes décrites.

Depuis les travaux de SCHAUDINN, il s'est créé entre les Spirochètes et les Trypanosomes, une regrettable confusion qui a amené certains auteurs à décrire, chez les Spirochètes, des formes sexuées et asexuées, des formes de conjugaison, des formes kystiques, etc.

Nous ne nous attarderons donc pas sur l'étude de la multiplication sexuée qu'il est classique de considérer depuis SWELLENGREBEL comme des artefacts de macération. Il en va de même de la sporulation qui n'a pu être étudiée comme l'a fait KOCH pour la spore de la bactériodie charbonneuse. HOLLANDE, qui a observé des kystes ou des états prékystiques (formes en C, en S ou en anneau) chez les Spirochètes des Termites, nie la sporulation chez les Cristispires.

Aujourd'hui, il est de notion classique de ranger Spirochètes et Trypanosomes dans deux embranchements distincts et sans aucun lien systématique. Les Cristispires sont des organismes à affinités incertaines, mais qui ont très vraisemblablement des liens d'étroite parenté avec les Spirochètes vrais.

Les hypothèses qui ont été émises reposent sur la comparaison d'images obtenues par des techniques diverses de coloration. Or, on sait depuis longtemps que le résultat d'un examen microscopique peut être très différent selon le fixateur employé, le mode de coloration, le temps d'action de ce colo-

rant et les parasites étudiés. Les Spirochètes sanguicoles et les Cristispires offrent des aspects variables suivant le milieu dans lequel on les prélève (sang circulant, organes, cultures, etc.) et suivant le mode de coloration (Giemsa, Löffler, imprégnation argentique). Il en est de même pour l'étude des coupes histologiques imprégnées à l'argent où l'action du fixateur et du nitrate d'argent peuvent varier selon l'épaisseur du tissu et selon le tissu lui-même.

Ces diverses formes ont été interprétées sans que leur évolution ait pu être régulièrement suivie et contrôlée. Nous verrons plus loin que des formes particulières (anneaux, grains, etc.) ont été interprétées tantôt comme des produits de dégénérescence, tantôt comme des formes de résistance, tantôt comme des formes évolutives. Ce n'est que par l'étude suivie des cultures que l'on peut espérer, ainsi que l'a fait SÉGUIN, mettre un peu d'ordre dans ce chaos.

Nous ne nous attarderons pas sur un certain nombre de formes difficilement interprétables, sur lesquelles les auteurs même ne nous ont donné que peu de documents et dont l'intérêt apparaît accessoire. Ce sont les formes étirées, rectilignes décrites par JACQUET et SÉZARY, SÉZARY, les formes atypiques (TOURAINÉ, JACQUET et SÉZARY, etc...), les masses ovoïdes, les pseudo-spores de NOGUCHI, les boules (HÖLLING), les nœuds et gouttes de PROWAZEK, les masses ovoïdes, les vésicules (CARTER), les Spirochètes épaissis, distendus (MANOUÉLIAN), les Spirochètes variqueux (MANOUÉLIAN, CL. SIMON et MOLLINEDO). Si certaines d'entre elles paraissent être les produits de fragmentation des parasites, telles que les formes rectilignes, étirées, fragmentées, d'autres semblent être des artefacts : masses ovoïdes de CARTER, etc. Les Spirochètes variqueux ont été considérés par MANOUÉLIAN, CL. SIMON et MOLLINEDO, comme des parasites en voie de dégénérescence, alors que les Spirochètes épaissis et distendus seraient des formes « vivaces » pour MANOUÉLIAN.

Nous avons résumé dans le tableau ci-après, les considérations qui ont fait l'objet d'interprétations précises. Nous pensons ainsi, bien mettre en évidence le caractère contradictoire des interprétations.

A. — Formes de résistance

a) *Les formes annulaires.* — Dans ce cadre nous avons groupé à dessein les formes de repos ou de dépression.

Les formes annulaires observées par KRZYSTALOWICZ et SIEDLECKI, PROWAZEK, MÜHLENS, LEVADITI et ses collaborateurs, HARTMANN et MÜHLENS, MAYER, KEYSSELITZ et MAYER, WOLBACH, PERRIN, SCHELLACK ont été interprétées comme des formes de résistance ou de repos parce qu'elles semblaient correspondre aux stades de latence de la maladie (syphilis

en particulier) et que de ce fait, elles paraissaient capables de reproduire des formes hélicoïdales.

b) *Les kystes*. — Décrits par KRZYSTALOWIZ et SIEDLECKI, BREINL, WOLBACH, HELLMANN, GONDER, HOLLANDE, pourraient, sous certaines conditions, redonner des formes typiques, comme le pense BLANC.

L'avis des chercheurs est partagé quant à l'interprétation de telles formations : DOBELL, GROSS, NOGUCHI, PORTER nient l'existence de kystes. Mais HOLLANDE rapproche les images « d'enkystement » de *Cr. tapetos* de celles qu'il a observées chez *Cristispirella caviae*. Chez *Cr. tapetos*, « le corps du parasite contourné, sécrète autour de lui une substance d'aspect muqueux et difficilement perceptible au début... Au fur et à mesure que cette sécrétion se poursuit, le Spirochète se trouve de plus en plus englué; les contours de la substance muqueuse qui, au début, était plastique, déformable par les ondulations du corps du Spirochète, cessent de l'être; en même temps, le produit sécrété diminue de volume, se condense et prend nettement la forme d'une sphère; la membrane kystique maintenant n'est plus déformable, et demeure, bien qu'épaissie, assez transparente pour que l'on puisse y reconnaître plus ou moins nettement les contours du Spirochète enroulé sur lui-même, fortement diminué de volume. Nous n'avons pu suivre avec exactitude, l'évolution du kyste ainsi formé... Il semble que le Spirochète ne s'enkyste que pour se préserver des conditions néfastes en présence desquelles il se trouve : présence des toxines, changement de pH, altération du milieu ? ».

Ainsi le kyste, d'une taille de 4,5 à 5 μ , serait une forme durable. Et poussant plus loin ses hypothèses, HOLLANDE se demande si cette forme ne subit pas des « transformations particulières à l'intérieur de son kyste et qui, par une sorte de sporogonie, pourrait donner naissance à de nouveaux germes multiples ».

Malheureusement, HOLLANDE n'apporte aucun fait expérimental précis pour étayer une telle hypothèse. Les observations qu'il a faites chez des *Cristispires* vivants, placés dans de l'eau de mer et examinés vers le 10^e jour, ne lui ont permis de voir que des parasites « gros et courts... ayant plus ou moins l'aspect de jeunes *Cristispires* »...

Il nous est donc impossible, sur de telles données, de pouvoir affirmer que les images observées par HOLLANDE soient de véritables kystes. Tout au plus, peut-on penser que ces productions sont le résultat d'un simple enroulement des parasites placés dans des conditions de vie défectueuses. Nous rappellerons, à ce sujet, que le processus d'enroulement a été bien décrit par DUBOSCQ et LEBAILLY chez les Spirochètes des Poissons de Mer, et par CHATTON chez *Tr. drosophilae*.

Nous pensons que le kyste décrit par divers auteurs, et par

HOLLANDE en particulier, ne doit être considéré que comme le résultat d'un processus de dégénérescence. En effet, dans les cultures âgées de Spirochètes, il est fréquent d'observer de telles formations. Or, elles sont particulièrement abondantes dans les cultures en voie de dégénérescence et se montrent incapables de redonner des Spirochètes nouveaux. Ces faits nous conduisent à infirmer l'existence de kystes chez les Spirochètes.

c) *Les grains et les granulations.* — Signalées par SCHAUDINN, BALFOUR, O'FARREL et BALFOUR, LEVADITI et ses collaborateurs, LÉPINE, apparaîtraient chaque fois que le milieu (dans lequel ont vécu les formes hélicoïdales) deviendrait défavorable à la multiplication des formes typiques. Les granulations posséderaient la propriété d'être pathogènes pour l'animal. Nous verrons plus loin qu'il n'existe aucun test qui permette de différencier les granulations d'origine spirochélique de celles qui proviennent de la précipitation du nitrate d'argent; donc leur signification demeure encore hypothétique.

B. — Formes de dégénérescence

a) *Les formes annulaires.* — BOSC, SÉZARY, LEVADITI et ses collaborateurs, MANOUÉLIAN, KRITCHEWSKY et SÉGUIN, LEVADITI, LEVADITI et MANOUÉLIAN, DUBOSQ et GRASSÉ, SWELLENGREBEL, ont observé des formes annulaires principalement au cours de la phagocytose des Spirochètes par les macrophages, les cellules du système réticulo-endothélial. De telles images ont été observées au cours des variations du pH dans les milieux de culture, par suite de mauvaises fixations des frottis, etc. A notre avis, elles ne sauraient être considérées que comme des formes en voie de dégénérescence : dans les cultures âgées des Spirochètes, alors que toute multiplication est devenue impossible, les formes annulaires apparaissent en grand nombre. Ensemencées dans les milieux usuels, elles sont incapables de reproduire les formes hélicoïdales. Les formes en anneaux et en boucles des Spirochètes sanguicoles ne transmettent jamais la maladie quand on les prélève dans les milieux de culture. De plus, KRITCHEWSKY et SÉGUIN les ont fréquemment rencontrées sur des frottis faits avec l'exsudat pyorrhéique prélevé au cours du traitement de la maladie de FOUCHARD-BOURDET par le Novarsénobenzol. Enfin, les formes d'enroulement intracellulaire signalées par LEVADITI et MANOUÉLIAN, MANOUÉLIAN, DUBOSQ et GRASSÉ sont suffisamment convaincantes pour qu'on ne les considère pas autrement que comme des stades de destruction aboutissant à la transformation des Spirochètes en granules.

b) *Les kystes*. — Les formes kystiques étudiées par BREINL, HINDLE, MOSKWIN, formées par l'enroulement progressif des Spirochètes, ne sont pas de véritables stades d'enkystement comme peuvent le présenter certains parasites (Ciliés, Trématodes). Jamais un observateur n'a pu suivre la destinée de ces stades jusqu'à la naissance de formes nouvelles. En dehors des images suspectes qui peuvent résulter d'artifices de préparation, aucune figure vraie d'enkystement n'a encore été signalée dans les cultures des Spirochètes. Nous devons donc les considérer ou comme le produit de plasmolyse (DOBELL) des anneaux ou des boucles ou comme des artefacts selon l'opinion de PORTER, PETTIT, ou comme des formes probables de dégénérescence.

Il arrive que lors des manipulations des frottis destinés à être colorés, les Spirochètes et principalement les Cristispires, subissant l'action des solutions non isotoniques, présentent le phénomène de la plasmolyse comme l'a signalé DOBELL; ils simulent ainsi des productions kystiques.

c) *La forme granulaire*, quoique probable, est encore hypothétique. L'action des médicaments spécifiques, l'action phagocytaire des mononucléaires et des macrophages, les variations physico-chimiques des humeurs ou des milieux de culture peuvent sans doute amener la transformation de la forme hélicoïdale, en boucles, puis en granules. Malheureusement, aucune observation précise n'a été faite malgré les constatations de KRZYSTALOWICZ et SIEDLECKI, BOSCH, JACQUET et SÉZARY, SÉZARY, HOFFMANN, NOGUCHI, MARCHOUX et COUVY, HOLLANDE, qui les considèrent comme des stades dégénératifs. Nous devons retenir seulement l'action destructive des phagocytes (LEVADITI et ses collaborateurs, MANOUELIAN) que l'on observe sur des préparations histologiques traitées par l'imprégnation argentique.

C. — Formes évolutives particulières

a) *Les anneaux*. — BERGER, LEVADITI et ses élèves, SÉZARY, WOLBACH, DUBOSQ et LEBAILLY, ont pensé que les anneaux pourraient constituer un stade évolutif des Spirochètes. Ces formes sont peut-être capables de redonner des Spirochètes typiques, avant que l'action destructive cellulaire ne se soit fait sentir. Mais aucune expérience solide ne vient étayer ces données qui reposent sur l'examen des préparations colorées ou sur l'interprétation personnelle d'expériences de syphilisation d'animaux de laboratoire. Ici, encore, la circonspection nous paraît nécessaire.

b) *Les formes grêles, minces ou métacycliques*. — Décrites par MARCHOUX et COUVY, HATT, MARCHOUX et CHORINE, KNOWLES, GUPTA et BASU, NICOLLE et coll., BRUMPT, ont été

observées chez les Invertébrés (*Argas*, *Ornithodoros*, *Pediculus*) qui ont effectué un repas sur un animal infecté par des Spirochètes sanguicoles. Elles paraissent provenir des formes inconnues, invisibles (NICOLLE et ses collaborateurs, BRUMPT). Dans les cultures des Spirochètes sanguicoles, on observe des éléments hélicoïdaux dont le diamètre est moindre que celui des formes typiques rencontrées dans le sang circulant et dans les cultures très jeunes (un ou deux jours). Si ces éléments existent chez l'invertébré, réservoir de virus, ils sont homologues à ceux observés dans nos cultures. A moins que les auteurs qui les ont figurés n'aient interprété comme tels les spirochétogènes des sanguicoles qui possèdent un filament assez large.

BRUMPT avait remarqué que les formes métacycliques apparaissaient vers le 10^e jour après le repas infectant d'*Ornithodoros moubata* infecté par *Sp. duttoni*, et que ces formes étaient petites, plus grêles, très mobiles mais plus faiblement colorables.

Quoi qu'il en soit, les observations de tels éléments paraissent exactes et elles doivent, en attendant d'être étudiées plus à fond, être considérées comme des formes évolutives jeunes de Spirochètes en voie de multiplication. Quelle est leur origine ? Nous ne pouvons à ce sujet qu'attendre le résultat de l'étude de cultures pures.

c) *Les grains ou granulations.* — MEIROWSKY, COLES, LEVADITI et ses élèves, LÉPINE, MACFIE, KERMORGANT, FANTHAM, DUTTON et TODD, LEISHMAN, BALFOUR, HINDLE, HATT, EBERSON et MOSSMAN, BREINL, HENRY, MOSKWIN, ont cru voir dans les granulations, un stade évolutif des Spirochètes, capables d'infecter les animaux (Rats, Souris, Cobayes, Poulets) inoculés. Il nous est permis de douter que des cas positifs d'infection expérimentale aient été obtenus avec la seule forme granulaire. On ne peut affirmer avec certitude que les formes hélicoïdales, même courtes, n'aient pas été à l'origine d'une telle infection, surtout lorsqu'on pratique des frottis sans centrifugation préalable.

Ici encore, toutes les tentatives de filtration et tous les essais de culture à partir de granulations ont échoué. De plus, il est impossible de distinguer sur les préparations, les granulations d'origine parasitaire et celles qui proviennent de précipités. Force nous est de les considérer comme des formes fragmentaires, sans signification absolue. Toutefois, on peut supposer que le granule spirochétogène puisse perdre son filament terminal et se résoudre à une simple granulation. Les granulations ultramicroscopiques telles que les ont décrites LEVADITI et ses collaborateurs, demeurent, en définitive, du domaine de l'hypothèse puisqu'ils ne possèdent pas l'ontogénèse des organismes spirochètiens.

L'observation de HINDLE qui dit avoir vu la transformation

des corps coccoïdes en Bacilles fusiformes, n'est pas moins singulière quand on sait que Bacilles fusiformes et Spirochètes sont deux organismes très différents. MARCHOUX et ses collaborateurs, BRUMPT, WOLBACH, contestent la transformation granulaire en Spirochètes telle qu'elle a été décrite par FANTHAM, DUTTON et TODD, LEISHMAN. NOGUCHI considère les granules qu'il a observés dans les vieilles cultures de Spirochètes, comme étant capables de « germer » en reproduisant des formes spirochètiennes. C'est également l'opinion de COLES.

d) *Les filaments*. — Ont été décrits par PROWAZEK, et surtout par NYKA et par SÉGUIN. Dans les organes des animaux syphilitisés expérimentalement, NYKA a observé des filaments intra et extra-cellulaires; ces stades constitueraient la forme d'état du virus syphilitique. Si l'on admet que de telles productions ne sont pas le résultat d'artefacts dus à une mauvaise imprégnation argentine des tissus examinés, il est intéressant de constater que les formes décrites par NYKA (fig. 1, 2, 5 à 14, 23, 25, 27, p. 243, 1934) sont tout à fait comparables à celles reproduites par MANOUÉLIAN et que ce dernier a fait entrer dans le groupe des granules spirochètogènes (fig. 1, 2, p. 698, 1935). La ressemblance des images est telle qu'un rapprochement ne paraît pas inutile.

Nous avons vu que SÉGUIN a également décrit et figuré de telles formations. Elles apparaissent dans les cultures du filtrat de *Spirochaeta calligyra* (fig. 25, 1939-1940) à partir de granules spirochètogènes; elles sont peu mobiles et paraissent être intermédiaires entre le spirochètogène et la forme hélicoïdale typique.

Si l'hypothèse de NYKA est exacte, par analogie avec les expériences de SÉGUIN, nous pouvons déjà conclure que de telles images font réellement partie du cycle évolutif des Spirochètes et qu'elles sont vivantes. Il est également possible que les organes des animaux infectés (ganglions de Lapin, en particulier) soient plus favorables à leur développement et à leur conservation que les milieux de culture artificiels. Toutefois, rien ne nous autorise à les considérer comme représentant la forme d'état du virus syphilitique selon l'expression de NYKA.

e) *Les infravirus, les formes invisibles*. — LEVADITI et ses élèves, n'ayant que rarement pu déceler *Treponema pallidum* sous sa forme hélicoïdale dans le foie, rate, ganglions lymphatiques, etc., avaient pensé que le virus se trouvait sous une forme « invisible » capable à son tour de donner des formes spirochètiennes quand elles étaient placées dans des conditions de vie plus favorables (scrotum de Lapin). L'hypothèse de l'existence d'un stade infra-visible semblait avoir résolu le problème du cycle évolutif des Spirochètes. Les expériences de filtration de MARCHOUX et ses collaborateurs, et l'étude

des organes apparemment dépourvus de Tréponèmes pâles tels que les ganglions de Lapins syphilités, l'étude du comportement des Spirochètes sanguicoles chez le Pou ou chez *Argas persicus*, ont amené LEVADITI et ses élèves, LÉPINE, d'une part, MACKIE, SERGENT et FOLEY, BLANC, d'autre part, à penser que le virus spirochétique pouvait se présenter sous une forme invisible. Ainsi s'expliquerait la virulence des organes tels que la rate, cerveau, etc..., d'animaux infectés expérimentalement soit par *Treponema pallidum*, soit par l'un des Spirochètes sanguicoles.

Mais HOFFMANN, JAHNEL et ses collaborateurs, BESSEMANS et son école s'opposent à cette hypothèse puisqu'ils ont pu découvrir des Spirochètes typiques (Tréponèmes pâles) dans ces organes. « De là est née l'hypothèse que l'on peut appeler désespérée, qui consiste à imaginer au microbe une forme invisible, à faire appel à un infra ou ultra virus. » (SÉGUIN, 1939-1940).

La théorie de LÉPINE attribuant au stade infravisible la propriété d'être à la fois infectante et résistante a vivement été combattue par LEVADITI et par BESSEMANS. Rien ne permet de considérer la forme tréponémique de *Treponema pallidum* comme avirulente et BESSEMANS résume bien sa pensée quand il écrit, à propos des ganglions de Lapin syphilité qui demeurent virulents jusqu'à la mort de l'animal : ... « cette considération... nous paraît plus conforme à l'hypothèse de l'absence qu'à celle de la présence d'une forme invisible du virus dans les syphilomes testiculaires, plus conforme par conséquent à l'idée du pouvoir pathogène qu'à celle de la non virulence des formes visibles » (1932).

Les cultures jeunes des Spirochètes sanguicoles ne renfermant donc pas de spirochétogènes se sont toujours montrées pathogènes pour les animaux inoculés. Le sang « aspirochétique » de Poule infectée par piqûre d'*Argas persicus* s'est montré virulent entre les mains de MARCHOUX et COUVY, MARCHOUX et CHORINE. Ces auteurs ont pensé que la forme infravisible était responsable de l'infection quand ce sang était inoculé à une Poule saine. Ces expériences semblent corroborer celles de BREINL et KINGHORN qui ont provoqué l'infection par inoculation de sang aspirochétique provenant d'un malade atteint de Tick-fever.

Il est surprenant que le virus infravisible, cultivable, soit capable de traverser les filtres quand il est prélevé dans les cultures, alors qu'il est retenu par les mêmes filtres quand il est prélevé dans le sang de Poule ou d'*Argas persicus*.

Autre remarque non moins importante : MARCHOUX et ses collaborateurs, n'ont jamais rencontré de formes de passage intermédiaires entre les formes hélicoïdales et le stade infravisible. Les expériences de SÉGUIN et les nôtres sont en contradiction avec celles de MARCHOUX et ses collaborateurs.

Pour CH. NICOLLE et son école, le stade invisible ou « gra-

nulation indifférente » serait virulent, mais représenterait la forme de résistance. Le stade prévisible, également invisible, posséderait la propriété d'être pathogène. Nous n'avons pas expérimenté sur le Pou, hôte chez lequel *Spirochaeta recurrentis* peut accomplir un cycle tout à fait différent de celui accompli par les autres Spirochètes chez *Ornithodoros moubata* ou chez *Argas persicus*. Toutefois, nous ne pouvons considérer la forme hélicoïdale comme une « forme ancestrale, saprophytique, avirulente » selon l'expression de CH. NICOLLE, de REMLINGER et BAILLY.

f) *Le granule spirochétogène*. — Ce stade qui fera l'objet d'une étude particulière doit au contraire être considéré comme une forme évolutive des Spirochètes. Ici, l'interprétation repose sur des bases solides : cultures, filtration, inoculation. L'étude des frottis n'aurait jamais permis à MANOUÉLIAN et à nous-même d'interpréter de telles formations sans les expériences fondamentales de SÉGUIN.

En matière de syphiligraphie, c'est son analogie avec les spirochétogènes des Spirochètes cultivables qui nous a conduit à considérer le spirochétogène de *Treponema pallidum* comme étant réellement une forme évolutive. Nous pouvons penser que cette forme joue un rôle important dans la biologie des Spirochètes, et son étude approfondie fera l'objet de travaux ultérieurs qui permettront de mieux saisir son importance.

Remplaçons le mot infravisible par spirochétogène : une grande clarté apparaît immédiatement dans l'interprétation des résultats obtenus par les divers expérimentateurs...

*
* *

Avant de clore ce chapitre, résumons brièvement les différentes hypothèses éphémères qui ont été émises à propos du cycle évolutif des Spirochètes.

En 1904, LEVADITI décrit la phagocytose de *Sp. gallinarum* par les macrophages du suc pulmonaire ou de la rate de la Poule infectée. Il remarque « des spirilles droits et des spirilles entortillés » sans noter de transformation granulaire. En 1906, LEVADITI et MANOUÉLIAN, poussant plus loin l'étude phagocytaire des cellules de Kupffer dans le foie de la Poule infectée, considèrent les formes en boucle ou en anneau, les corpuscules comme des formes de dégénérescence. En 1909, LEVADITI et ROCHÉ (p. 170) s'appuyant sur les constatations antérieures de LEVADITI chez *Sp. duttoni* et *Sp. pallida*, signalent des formes granulaires très argentophiles résultant de l'action phagocytaire des macrophages chez les hérédosyphilitiques au niveau des poumons (fig. 44, p. 344) : « Cette disposition particulière traduit un état de souffrance; elle doit être considérée comme un signe de dégénérescence et d'invo-

lution, et non pas comme un stade dans le cycle évolutif de ces microorganismes ».

Cette hypothèse est encore soutenue en 1924, 1926 par LEVADITI et ses élèves, qui étudient l'action destructive du bismuth sur les Spirochètes chez les Lapins syphilitisés : « La destruction totale des parasites s'opère généralement entre le quatrième et le cinquième jour. A ce moment, plus de tréponèmes spiralés, mais des granulations fines, d'autant plus abondantes que le tissu était riche en germes. Cette fonte granulaire du *Treponema pallidum* est précédée par une disposition du microbe en boucles; elle pourrait s'effectuer en dehors des éléments cellulaires (fig. a à e, pp. 554, 555, 557, 1926).

Nous avons vu que LEVADITI et YAMANOUCI en 1908 avaient nié l'existence du cycle évolutif de *Tr. pallidum* pendant la période d'inoculation qui précède la manifestation syphilitique primaire chez le Singe ou la kératite chez le Lapin syphilitisé expérimentalement.

Mais à partir de 1927, LEVADITI et ses collaborateurs amorcent l'idée d'une forme invisible du virus syphilitique dans les ganglions lymphatiques des Lapins : c'est la phase préspirochètienne, précédant la phase tréponémique, visible. « Pour nous, ces formes granulaires, presque ultramicroscopiques représentent la phase préspirochètienne du virus syphilitique ». Ainsi ces granules sont considérés comme le stade ultime, granulaire, résultant « d'un processus involutif »... « Les pelotes serrées de même que les granulations argentophiles, seraient capables de se transformer à leur tour, d'abord en Tréponèmes courts (formes jeunes), ensuite en Spirochètes de plus en plus longs et riches en ondulations (formes adultes) »...

Malgré les essais de filtration qui sont demeurés négatifs, LEVADITI et ses collaborateurs estiment que cette forme granulaire évolutive est la forme de résistance (1928).

LEVADITI et ses élèves (1935) croient pouvoir concilier les théories déjà émises (dégénérescence, involution, évolution) en formulant une hypothèse nouvelle, à propos de la destinée des formes en boucles, pelotes ou granulations. Voici comment s'expriment ces auteurs : « ... si, par suite de conditions de vie défavorables, créées par le tissu sous-cutané de la Souris, le tréponème subit des modifications évolutives et entre dans la phase précédant immédiatement l'état infravisible, sa virulence pour le Lapin, se trouve, de ce fait, amoindrie... Il en résulte que les formes en boucles, en pelotes, de même que les granulations argentophiles, représentent des phases distinctes du cycle évolutif du virus syphilitique. Leur sort final peut être différent suivant la nature du milieu qui les héberge. Si ce milieu est favorable, les boucles accomplissent rapidement leur cycle complet, lequel aboutit à nouveau à la forme spirochètienne végétative. Si, au contraire, le même

milieu est défavorable, elles sont destinées, tôt ou tard, à perdre définitivement leur vitalité ».

Cette théorie de l'existence d'une forme infravisible, soutenue par des hypothèses aussi variées qu'ingénieuses, se développe jusqu'en 1936 (b), date à partir de laquelle LEVADITI n'y attache plus « que l'importance qu'il convient d'attribuer à toute hypothèse de travail » !

Pour nous, les images schématiques figurées par LEVADITI, et celles du spirochétogène (microphotographies, pour la plupart) reproduites par SÉGUIN et par MANOUÉLIAN sont si différentes qu'un observateur même non averti, ne saurait en aucun cas les confondre. En d'autres termes, les figures de LEVADITI pourraient être assimilées à des stades involutifs dégénératifs, comme il est fréquent d'en rencontrer dans les cultures âgées de Spirochètes. Aussi, nous nous refusons à admettre la série d'hypothèses relatives au cycle évolutif de *Tr. pallidum* telles qu'elles ont été émises par LEVADITI et son école.

Un autre exemple, non moins frappant, nous est fourni par la suite de publications de SÉZARY, JACQUET et SÉZARY.

Nous avons vu que JACQUET et SÉZARY (1906, 1907) ont signalé des aspects anormaux de *Tr. pallidum* qu'ils considèrent comme dégénératifs. SÉZARY (1910) retrouve les mêmes formes sur des préparations d'une lésion gommeuse syphilitique, ainsi que des formes enroulées, des vésicules. Plus tard, cet auteur (1910 a, 1912) étudie particulièrement la forme annulaire et les masses de 2 à 4 μ de diamètre percées « en leur centre d'un orifice parfois inconstant et quelquefois minuscule », masses provenant des formes annulaires.

En 1930, SÉZARY écrit : « A l'époque où nous écrivions ces faits, nous considérons des formes atypiques comme des formes dégénératives. Mais que des formes de *dégénération* puissent devenir des formes de *régénération*, ceci ne doit pas nous surprendre ».

Comme on le voit, les formes en anneau ou en boucle et les granulations ont eu le curieux privilège d'avoir été interprétées tantôt comme des formes involutives, tantôt comme des formes évolutives, tantôt comme des formes de résistance, sans qu'une étude approfondie des cultures des Spirochètes ait apporté une donnée expérimentale digne d'être prise en considération.

Le cycle évolutif de *Tr. pallidum* est loin d'être « un fait bien acquis » comme l'écrit KANNER (1931) dans sa thèse.

L'auteur lui-même reconnaît qu'il reste beaucoup à faire puisqu'il ajoute : « ce qui reste à établir ce sont les phases successives, la situation exacte dans ce cycle vital de toutes les formes visibles et invisibles qui ont été décrites »... Or toute, ou presque toute la question est là !

De plus, les théories de son maître LEVADITI sont insuffisantes pour qu'il puisse considérer « certaines formes comme

des stades du cycle évolutif du tréponème, d'autres comme des formes de dégénérescence ou de vie latente ».

Le problème du cycle évolutif des Spirochètes est extrêmement complexe et nous pensons que la solution sera apportée par l'étude comparative des microorganismes *in vivo* et *in vitro*.

Citons ici, le cas de la Souris considérée comme animal atteint de syphilis inapparente. Or, en 1937, STROESCO et VAISMAN, auraient pu, par une technique particulière d'imprégnation argentique, déceler de nombreux tréponèmes typiques dans le revêtement cutané et le système nerveux périphérique de ce Muridé, sans noter la moindre lésion spécifique.

CHAPITRE II

Le granule spirochétogène

Quelques auteurs ont figuré le granule spirochétogène, mais l'ont considéré comme un simple cil et n'y ont pas attaché d'autre importance. Nous avons maintenant, grâce aux travaux de SÉGUIN, une définition plus exacte et plus précise de cet organite. Ses travaux ont apporté toute la clarté nécessaire à la difficile étude du rôle biologique du granule spirochétogène.

Les prétendus cils figurés, en particulier, par SCHAUDINN (1907) ont amené MANOUÉLIAN (1940) à conclure que ces formations étaient la reproduction d'une forme minuscule de *Sp. pallida*. Nous mentionnerons les savants qui ont figuré incidemment les spirochétogènes chez divers Spirochètes. Les images reproduites par BERGER (1906, fig. 13), ZETTNOW (1906, fig. 30), HOFFMANN (1908, fig. 17 à 23) sont suffisamment caractéristiques pour qu'aucun doute ne puisse subsister : ce sont bien des filaments munis de spirochétogènes à leur extrémité libre.

Ces formes ont été interprétées, d'une façon générale, soit comme des cils, soit comme des filaments terminaux.

Les conclusions de MEIROWSKY confirmées par FONTANA sont d'un caractère différent. Ces auteurs ont décrit des « bourgeons latéraux » et parfois « terminaux », capables de se ramifier en « forme de rose ou d'ombelle ». Ces éléments considérés par les auteurs comme des formes de reproduction ont une certaine ressemblance avec les spirochétogènes. Mais leur mode de formation est entièrement différent de celui décrit par SÉGUIN.

Le travail de KERMORGANT (1925, 1926) que l'on peut considérer comme un travail de précurseur est des plus intéressants. En effet, KERMORGANT a été le premier à bien mettre en évidence la formation du « granule spirochétien » (granule muni d'un filament ondulé) dans les cultures d'un Spirochète dit des oreillons, et qu'il a considéré comme étant la forme filtrante, mais visible du parasite. Néanmoins, le fait que KERMORGANT ait utilisé pour ses recherches une culture impure d'un Spirochète d'origine buccale, laissait un doute légitime sur l'importance et l'originalité de sa découverte.

Nous avons vu que dès 1930, SÉGUIN avait signalé la présence dans les cultures de *Spirochaeta calligyra* et de *Spiro-*

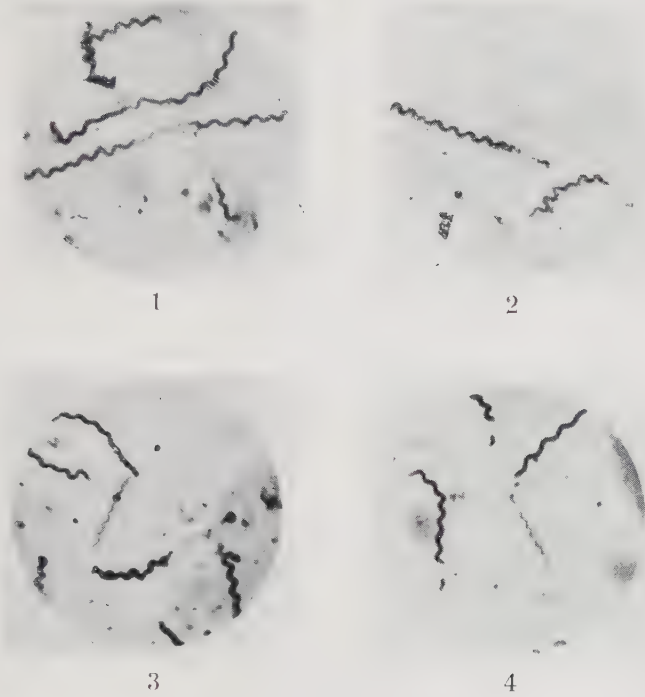
chaeta gallinarum, d'un « ultra-virus spirochétique » formé par un grain arrondi, très argyrophile, muni d'un fin filament terminal et ondulé. Ce filament, reliquat du périplasme lors de l'étirement de deux parasites en voie de division « homotypique » (ou normale), s'observe également lors de la formation de l'ultravirus spirochétique. Le filament n'est qu'un appendice, et comme l'a écrit MANOUÉLIAN, sans ce filament, il est impossible de discerner sur les préparations ce qui est réellement vivant, des artefacts.

Plus tard, MANOUÉLIAN a préféré donner le nom de granule spirochétogène à la forme décrite antérieurement par P. SÉGUIN, pour ne plus l'appeler, en définitive, que spirochétogène. Depuis la découverte de P. SÉGUIN, les recherches se sont poursuivies et dès 1930, MANOUÉLIAN a pu déceler le granule spirochétogène dans les diverses lésions de la syphilis humaine et expérimentale. Tout dernièrement, SÉGUIN (*loc. cit.*) a publié le résultat de ses recherches faites sur plus de dix espèces de Spirochètes commensaux obtenus en cultures pures. Pour chacun d'eux, il a été figuré un granule spirochétogène (Pl. I, II, III) et, si l'on s'en rapporte au travail de cet auteur, on est frappé par l'unité morphologique qui existe entre ces spirochétogènes et les divers Spirochètes qui leur ont donné naissance.

Mais revenons aux premières expériences de P. SÉGUIN : le granule spirochétogène est capable de traverser les parois des filtres Chamberland (Pl. III, *fig.* 11 et 12) et de redonner, en l'absence de toute forme spirochétique, des Spirochètes nouveaux, si le filtrat estensemencé dans des milieux convenables à la culture des Spirochètes. Voilà un fait expérimental bien établi et qui a servi de base à nos recherches; le granule spirochétogène est donc bien un organisme vivant, faisant partie du cycle évolutif des Spirochètes.

SÉGUIN précise : « faute de pouvoir isoler un spirochétogène et suivre sa destinée au microscope, nous avons recherché tout d'abord la solution du problème en étudiant comparativement ce qui se passait dans les cultures repiquées, issues, soit de cultures jeunes, où les spirochétogènes sont absents, soit de cultures âgées, riches en granules spirochétogènes » (p. 843). Les subcultures nouvelles s'obtiennent rapidement en 24-48 heures en bouillon-sérum-rein de Lapin pour *Sp. calligra*, à partir de cultures jeunes, par division transversale homotypique simple ou multiple. Par contre, si l'on repique une culture âgée (plus de 21 jours) du même organisme, le développement s'obtient beaucoup plus lentement et il faut attendre le 8^e jour pour assister à l'apparition des premiers éléments hélicoïdaux. Des frottis, fixés et colorés à partir d'une telle culture, montrent des Spirochètes courts de quelques tours de spire. Bientôt ceux-ci se développent pour donner des formes typiques. Voici ce qu'écrit SÉGUIN (p. 844) : « Avant l'apparition des formes mobiles, on voit sur

Planche I



Spirochaeta calligyra

(Souche XI, culture de 3 semaines
en bouillon-ascite-rein de Lapin)

FIG. 1. — Divisions homotypiques. Dans la moitié supérieure du champ, deux Spirochètes en voie de division sont réunis par la charnière périplasmique. En dessous on voit deux Spirochètes égaux encore unis par un long filament ondulé.

FIG. 2. — Division hétérotypique. Un microspirochète d'un peu plus d'un tour de spire est réuni à un Spirochète normal par le périplasme ondulé.

FIG. 3. — Division hétérotypique donnant naissance à un granule spirochétogène. Le granule terminé à un pôle par un long filament, témoin d'une division antérieure, est encore relié au Spirochète d'où il provient par le périplasme ondulé.

FIG. 4. — Granule spirochétogène libre présentant un long filament ondulé.

Images et légendes empruntées au travail de P. SÉGUIN (loc. cit., 1940).

Toutes les microphotographies reproduites dans ce travail proviennent de préparations obtenues avec la technique de P. Séguin. Camera Leitz Makam; obj. Koristka semi-apochr. 1/15; ocul. Leitz périplan, 15 X.

Grossissement identique pour toutes les figures (P. SÉGUIN, phot.).

Planche II

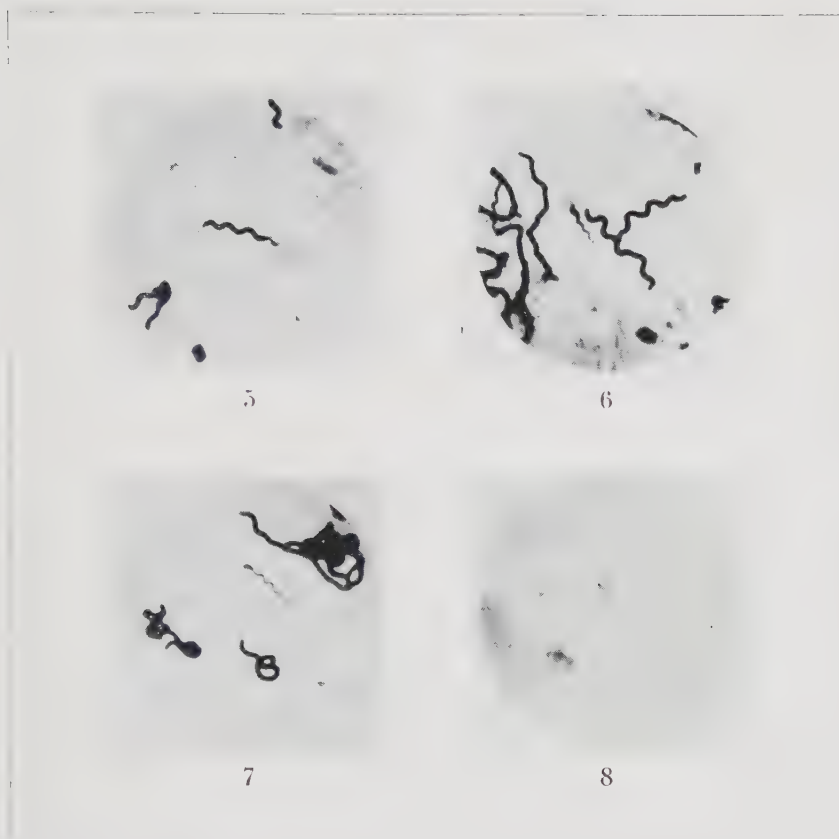


FIG. 5. — *Spirochaeta refringens* (souche Mign.). Culture de 10 jours en bouillon-sérum-rein. Division hétérotypique aboutissant à la libération d'un granule spirochétogène. Le granule relié au Spirochète par la charnière périplasmique présente à l'autre pôle un filament ondulé.

FIG. 6. — *Spirochaeta refringens* (souche Bal.). Culture de 15 jours en bouillon-sérum-rein. Granule spirochétogène libre. Remarquer l'épaisseur et la brièveté du filament ondulé.

FIG. 7. — *Spirochaeta refringens* (souche Mign.). Culture de 10 jours en bouillon-sérum-rein. Granule spirochétogène libre.

FIG. 8. — *Spirochaeta buccalis* Cohn (souche Brise.). Culture de 6 jours en bouillon-sérum-rein. Granule spirochétogène libre.

(Images et texte empruntés au travail de SÉGUIN, 1940).

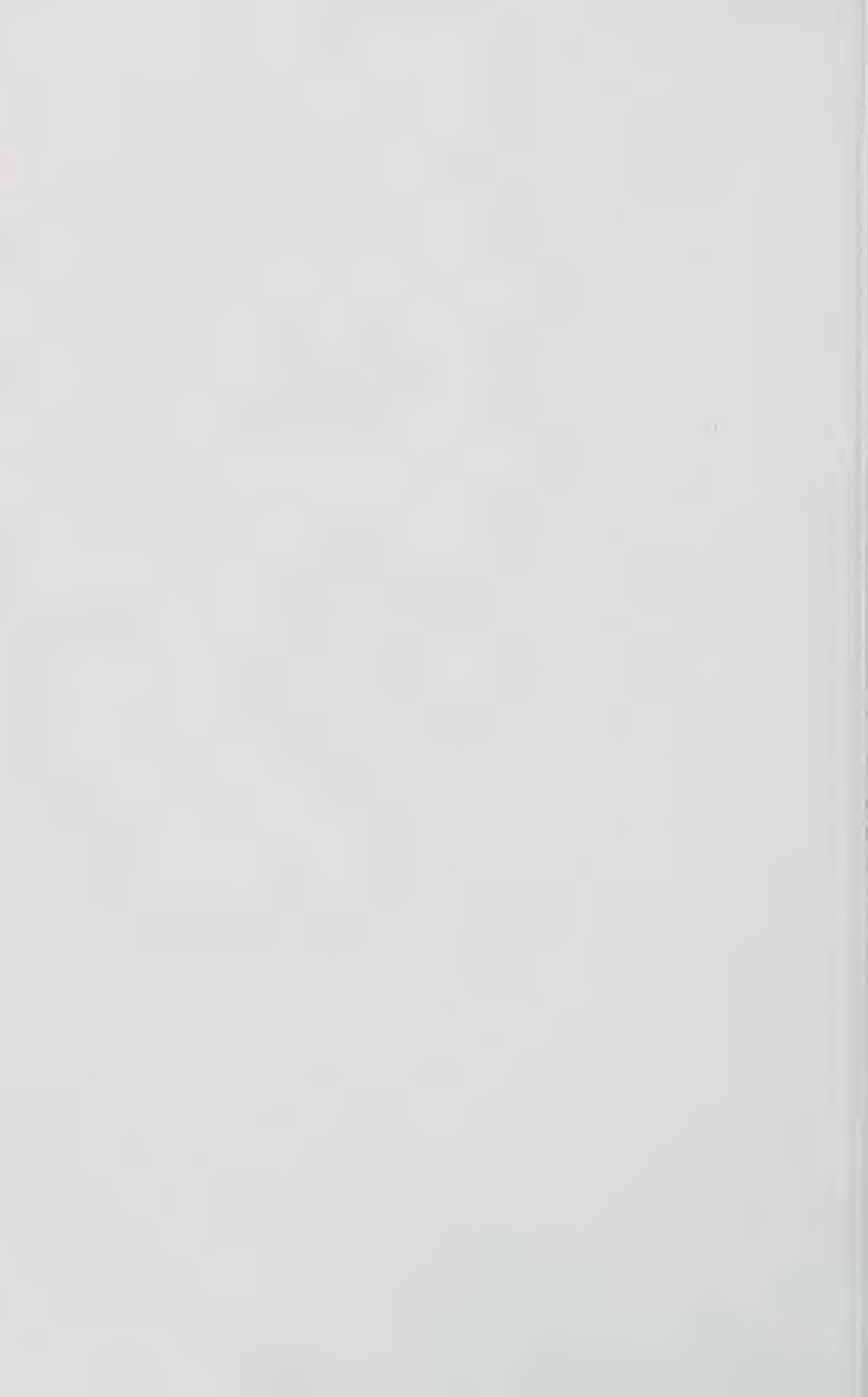


Planche III

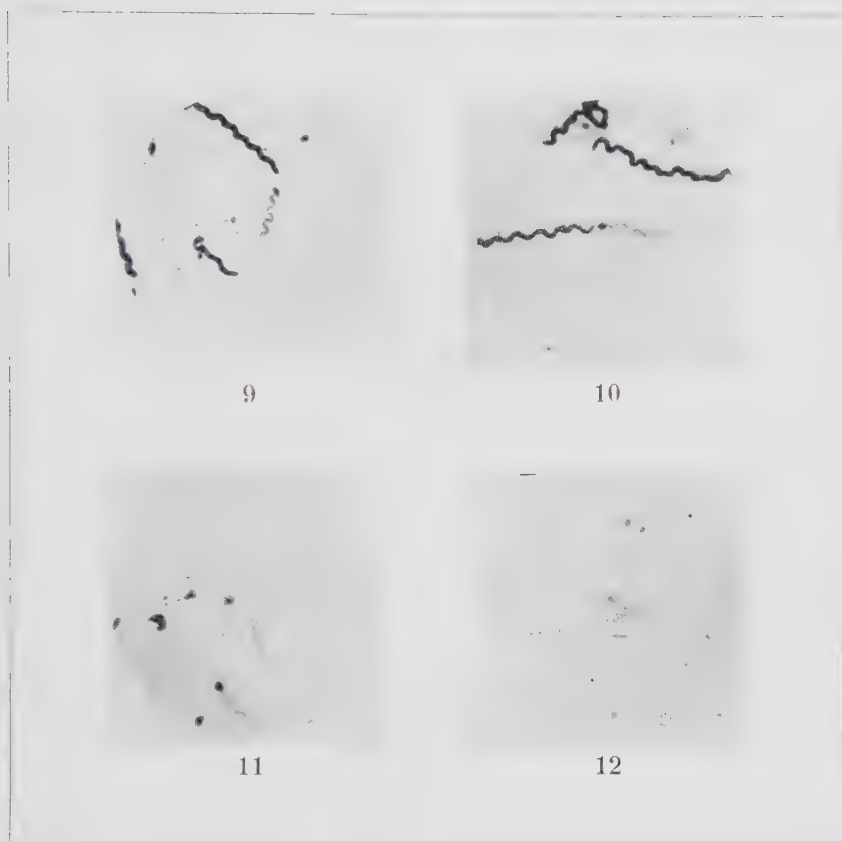


FIG. 9. — *Spirochaeta calligyra*. Granule spirochétogène libre. Remarquer la longueur et la régularité du filament terminal. (Culture de 21 jours en bouillon-ascite-rein de Lapin).

FIG. 10. — *Spirochaeta macrodentium*. Granule spirochétogène appendu à un Spirochète : image observée au cours de la division hétérotypique. Entre le granule et le Spirochète, il existe un pont périplasmique très court.

FIG. 11. — *Spirochaeta calligyra*. Granule spirochétogène ayant traversé les pores d'une bougie Chamberland L2. (Filtrat de culture âgée).

FIG. 12. — *Spirochaeta calligyra*. Granule spirochétogène ayant traversé un filtre Chamberland L3. (Filtrat de culture âgée).

(Images et texte, en partie d'après SÉGUIN, 1940).

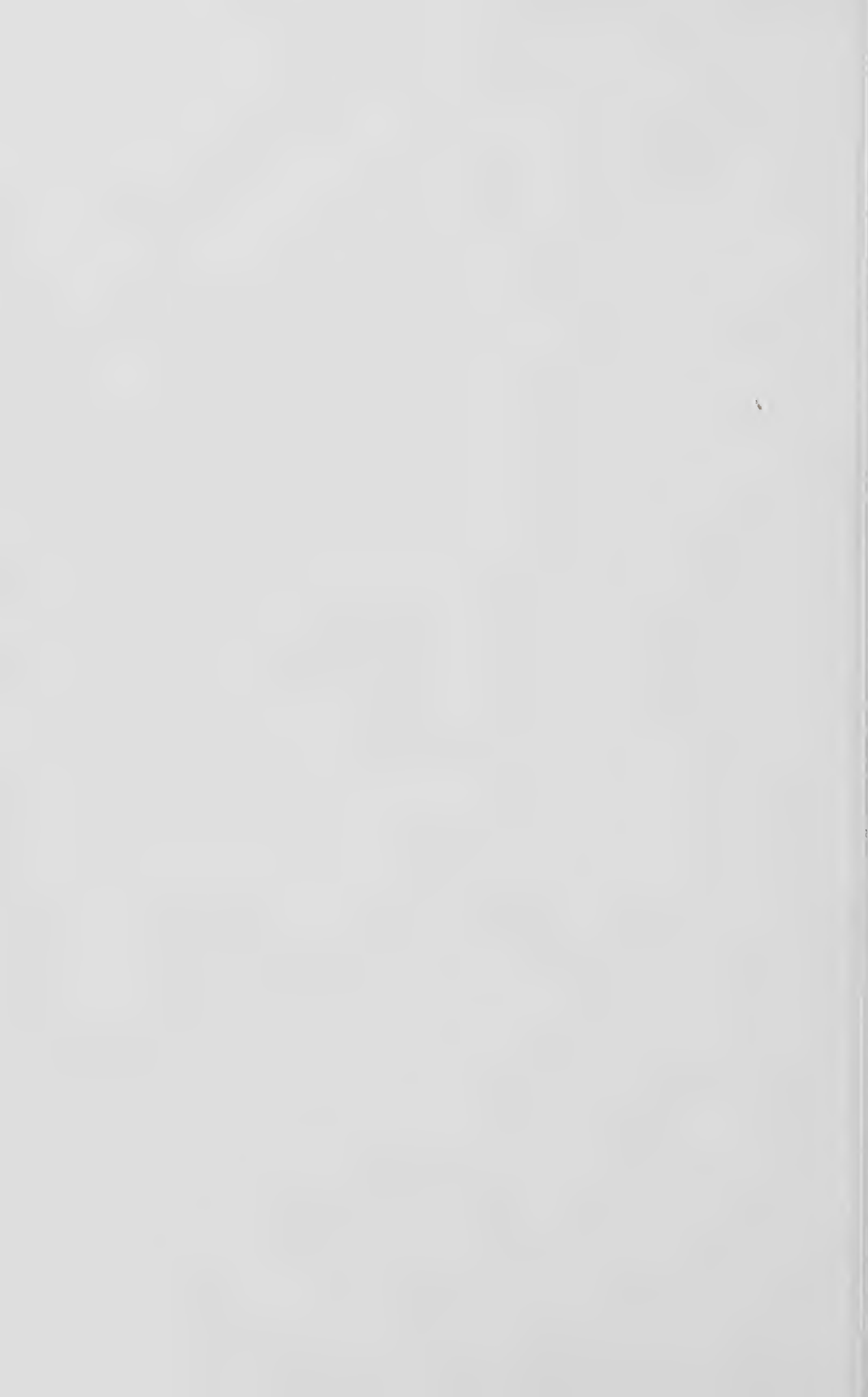


Planche IV

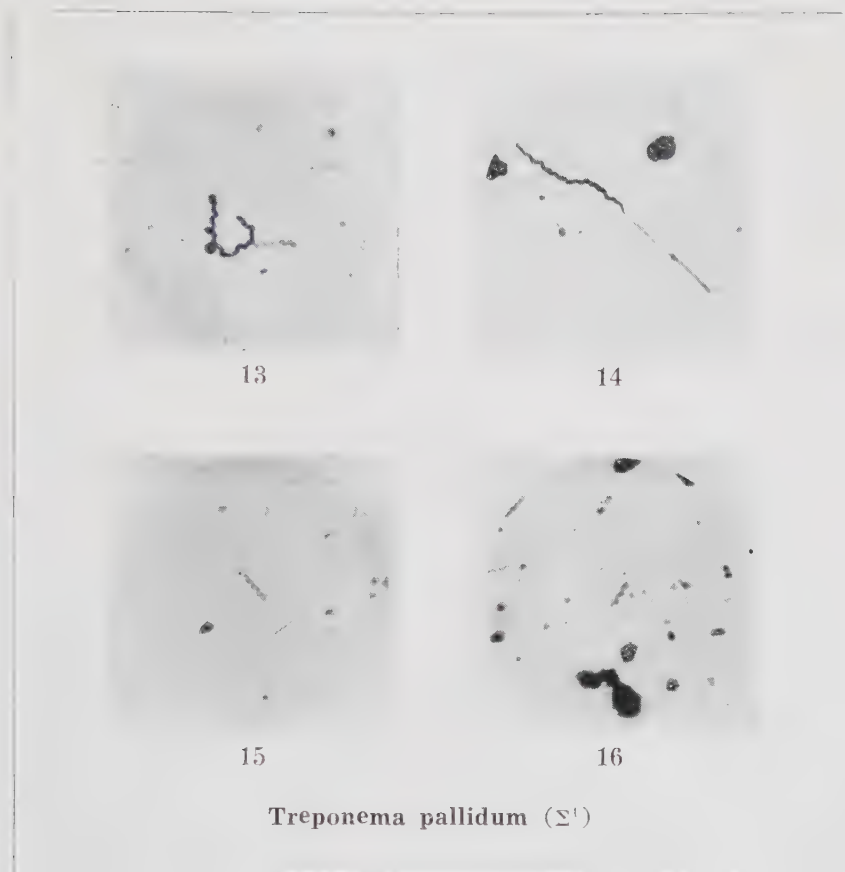


FIG. 13. — Parasite à tours de spire irréguliers, présentant à sa partie inférieure et dans la région sub-terminale, un granule spirochétogène. (Syphilis expérimentale du Lapin).

FIG. 14. — Tréponème en voie de division hétérotypique muni d'un filament presque rectiligne, avec un granule spirochétogène. (Même matériel).

FIG. 15. — Granule spirochétogène libre. (Ponction ganglionnaire chez une malade).

FIG. 16. — Autre spirochétogène libre, provenant également d'une ponction ganglionnaire.

les frottis colorés des Spirochètes à spires relâchées, mal imprégnés, granuleux, quelques éléments en voie de division hétérotypique et d'assez nombreux granules spirochétogènes. Dès qu'apparaissent des microspirochètes libres, on note une plus grande abondance de formes longues, filamenteuses, souvent disposées en amas, en voie de division hétérotypique ».

Dans les frottis faits à partir du culot de centrifugation, après fixation et coloration, on ne voit que des spirochétogènes munis d'un filament terminal ondulé, ainsi que d'autres granulations indéterminées.

Après réensemencement du filtrat, on observe des Spirochètes allongés, peu mobiles et cela au bout de 9 à 10 jours d'étuve : « Il semble que les spirochétogènes ne donnent naissance en s'accroissant lentement dans les milieux, qu'à des éléments peu actifs, ayant perdu la plus grande partie de leur vitalité ». Mais si ce filtrat est ensemencé dans un milieu renfermant un bacille favorisant le développement des Spirochètes — *Fusocillus schmaminei*, en la circonstance — les spirochétogènes se développent dès le huitième jour.

Ces expériences de filtration ont été poursuivies par SÉGUIN et s'il ne nous est pas possible de donner tous les détails de ces travaux encore inédits, il nous est d'ores et déjà permis de dire que le repiquage des filtrats en milieux neufs, se font selon le même schéma mais avec des variantes dans le temps suivant les espèces étudiées.

Au point de vue morphologique, « chaque espèce de Spirochète possède un spirochétogène dont la morphologie moyenne est suffisamment typique et constante pour constituer un caractère distinctif précieux pour la détermination soit de l'espèce, soit du groupe auquel il appartient » (p. 850). Il est, en effet, remarquable de voir sur les microphotographies publiées par SÉGUIN (cf. également les nôtres) la grande ressemblance qui existe entre les spirochétogènes des espèces sanguicoles (*Sp. gallinarum*, *Sp. duttoni*, *Sp. hispanica*) : le diamètre du spirochétogène est sensiblement égal à celui du Spirochète dont il est issu, les tours de spire sont lâches, les filaments ondulés sont longs. Les spirochétogènes de *Sp. buccalis* (Pl. II, fig. 8) et de *Sp. refringens* (Pl. II, fig. 5, 6, 7) sont également de grande taille, comparativement aux spirochétogènes de *Tr. pallidum* et à ceux de *Sp. calligyra* qui sont fins, difficilement colorables, à tours de spire réguliers et le plus souvent courts (Pl. I, fig. 4 et Pl. III, fig. 9).

Les spirochétogènes de *Sp. microdentium* et de *Sp. ambigua* sont très ressemblants, et ils se différencient très nettement de ceux de *Sp. orogyrata*, de *Sp. macrodentium* (Pl. III, fig. 10) et de *Sp. comandoni*.

Au point de vue biologique, l'apparition des spirochétogènes dans les milieux de culture, varie dans le temps selon l'espèce étudiée, selon le milieu employé et selon le pH du

milieu. C'est ainsi que pour les Spirochètes sanguicoles, les spirochètogènes apparaissent très tôt (vers le 5° au 10° jour), alors qu'on ne peut les voir pour *Sp. calligyra*, *Sp. ambigua* et *Sp. comandoni* qu'au bout de 21 à 28 jours à 37° C.

SÉGUIN fait remarquer « que les milieux où les spirochètogènes apparaissent en abondance sont également ceux où la culture conserve le plus longtemps sa vitalité (de 6 mois à deux ans d'étuve, suivant les souches considérées) ».

Ces constatations nous ont amené, il y a cinq ans, à entreprendre l'étude du granule spirochètogène de *Sp. pallida* dans diverses lésions de la syphilis humaine, puis celle des spirochètogènes des divers Spirochètes sanguicoles (*Sp. gallinarum*, *Sp. duttoni* et *Sp. hispanica*) dans les milieux de culture.

Enfin, avec la collaboration de CLÉMENT SIMON, nous avons recherché et nous avons effectivement décelé, chez l'Homme atteint de syphilis et en cours de traitement, le spirochètogène de *Tr. pallidum* dans les adénopathies primaires spécifiques (Pl. IV, fig. 15 et 16), les accidents secondaires cutanés (Pl. V, fig. 17, 18), les gommes tertiaires (Pl. V, fig. 19 et 20), etc... Nous avons présenté plus haut le résultat de nos recherches, nous exposerons maintenant la série de travaux que nous avons entrepris dans le but d'étudier le cycle évolutif de certains Spirochètes sanguicoles.

Planche V



FIG. 17. — Granule spirochétogène terminé par un filament bien ondulé.
(Frottis de syphilide secondaire).

FIG. 18. — Granule spirochétogène à filament plus court et plus trapu.
(Même matériel).

FIG. 19. — Granule spirochétogène muni d'un filament grêle. (Frottis de
gomme cutanée syphilitique).

FIG. 20. — Granule spirochétogène de petite taille à filament très court.
(Gomme cutanée syphilitique).

CHAPITRE III

La division chez les Spirochètes

Pendant longtemps, deux théories se sont affrontées relativement au mode de division des Spirochètes : longitudinal ou transversal.

Tant que l'on admis que le mode de division des Spirochètes était longitudinal, on devait nécessairement classer les Protozoaires parmi les Flagellés. Au contraire, si comme on le croit actuellement, le mode de division est transversal, les Spirochètes doivent être rangés parmi les Schizophytes.

Le mode de division a été longuement controversé dans de nombreux travaux, fournissant ainsi aux auteurs une argumentation pour la classification des parasites dans la systématique.

La division longitudinale qui a été admise par certains chercheurs comme un processus normal de division ou comme associé au processus de la division transversale, n'est plus admise aujourd'hui. On se rappelle que PORTER et FANTHAM, DUTTON et TODD avaient remarqué l'alternance des deux modes de fragmentation chez *Cr. balbianii*, *Cr. anodontae*, *Sp. recurrentis* et *Sp. duttoni*.

En 1930, SÉGUIN a précisé le mode d'enroulement de deux parasites aboutissant à la forme en V ou en Y chez *Tr. calligyrum* (= *Sp. calligra*). Les mouvements de flexion autour de la charnière périplasmique sont tels que les deux extrémités libres des Spirochètes peuvent s'enrouler plus ou moins complètement. Voici ce que SÉGUIN écrit à ce sujet :... « je pense que ces images d'enroulement, ainsi que celles de déroulement qui leur succèdent, ont été souvent interprétées comme des figures de division longitudinale ».

L'enroulement avait été signalé par HINDLE en 1911 au cours de la division transversale de *Sp. duttoni* et de *Sp. gallinarum*. L'auteur a reproduit les images de « flexion » dans son travail consacré au cycle évolutif de *Sp. gallinarum* (fig. 1 a-h). Les figures de HINDLE sont comparables à celles décrites par GROSS (1910) et connues sous le nom de « phénomène de Gross » : courbure au niveau du point de fragmentation, puis enroulement des extrémités libres du parasite en voie de division transversale.

La division est précédée, d'après ER. et ED. HOFFMANN, par des mouvements de flexion (knickbewegungen) du corps de *Tr. pallidum*. Ce mouvement serait pour BESSEMANS (1936) le résultat de « convulsions agoniques ».

En définitive, les auteurs modernes s'accordent à considérer les images en V ou en Y comme le produit d'artefacts résultant de l'accolement de deux Spirochètes, au cours de la fragmentation.

L'étude prolongée au fond noir des parasites hélicoïdaux a permis à nombre de chercheurs de confirmer l'hypothèse de la division transversale, hypothèse qui avait été jusqu'alors fondée sur l'examen de préparations fixées et colorées.

ZETTNOW, puis SWELLENGREBEL ont été parmi les premiers défenseurs de la théorie de la division transversale des Spirochètes.

La division transversale a été signalée, entre autres, par LAVERAN et MESNIL, DUTTON et TODD, NOVY, BREINL, PETTIT et MARTIN, etc., chez de nombreux Spirochètes et Cristispires, tandis que l'école allemande avec SCHAUDINN, PROWAZEK, etc. soutenait l'existence de la division longitudinale chez *Tr. pallidum*, *Sp. gallinarum*, *Sp. buccalis*, *Sp. vespertilionis*, *Sp. duttoni*, *Sp. obermeieri*, etc.

Nous rappellerons que pour ces deux derniers parasites, NOGUCHI admettait la division longitudinale.

Des études cytologiques très poussées, mais non définitives ont permis de mieux comprendre le processus de cette fragmentation transversale.

Dès 1906, ZETTNOW a signalé chez *Sp. anserinum*, la formation de deux grains aux pôles de la région étirée du parasite en voie de fragmentation.

Chez *Cr. balbiani*, SWELLENGREBEL (1907) voit apparaître au point de fragmentation et au milieu du corps du parasite, deux granules qu'il considère comme étant d'origine périsplasmique. Par invagination du périsplasme, une cloison naît de l'union des deux granules. Il s'ensuit un étranglement du cytoplasme, puis la séparation des deux nouveaux organismes.

Chez *Sp. buccalis*, le même auteur n'a pas noté l'apparition de deux granules, mais simplement une rétraction protoplasmique qui précédait la division transversale.

En 1908, KRZYSTALOWICZ et SIEDLECKI ont pensé que l'espace clair qu'ils avaient observé chez *Tr. pallidum* correspondait à la chromatine du noyau, alors que le noyau serait diffus dans le cytoplasme. L'espace clair serait le point de rupture de la division longitudinale. Les granulations métachromatiques constitueraient pour DOBELL (1912) des réserves de matériel amassé dans l'organisme.

DUBOSQ et LEBAILLY (1912) ont figuré chez *Tr. gadi*, en particulier, un grain médian qui prendrait naissance au

niveau de la division transversale. Sur des préparations traitées au Loeffler, DUBOSCQ et LEBAILLY ont constaté que ce grain se vacuolisait, s'étirait et finalement donnait naissance à deux nouveaux grains.

La présence d'un tel grain avait déjà été signalée et étudiée par Mlle ZUELZER chez *Sp. plicatilis*. Le grain résulterait de l'épaississement du filament axial de *Sp. plicatilis* et se diviserait à son tour en deux nouveaux grains.

Mais si Mlle ZUELZER attribue à une telle formation une origine axile, HOLLANDE (1922) par contre lui prête une origine externe (périplasmique) selon la description de SWELLEN-GREBEL.

Le corpuscule décrit et figuré par HOLLANDE a été appelé « schizoplaste ». Il a été bien observé chez certains Spirochètes des Termites et chez des Spirochètes de la bouche de l'Homme.

Ce schizoplaste s'allonge et se fragmente ensuite en deux petits corpuscules colorables par l'éosine. Ces derniers disparaissent au fur et à mesure que progresse la division du parasite. Cet organite serait constitué par de la métachromatine et non pas par de la chromatine (HOLLANDE).

En étudiant *Cr. tapetos* Schellack, HOLLANDE (1924) n'a pas retrouvé le schizoplaste. Il a seulement remarqué un épaississement de la paroi externe du parasite formant une membrane transversale. Cette dernière se cliverait à son tour en deux membranes planes qui s'arrondiraient par la suite pour constituer les deux extrémités opposées des deux nouveaux parasites.

Le schizoplaste a été retrouvé par DUBOSCQ et GRASSÉ en 1927 chez *Cr. termitidis* Leidy. Ils l'assimilent au corpuscule signalé par SCHAUDINN (1902) chez *Bac. Butschlii*. DUBOSCQ et GRASSÉ ont également décrit, chez *Tr. spermiformis*, un grain chromatique au niveau de séparation de la zone chromatique et de la zone achromatique du parasite.

La présence de tels grains peut ne pas être unique, on assiste alors à la division transversale multiple : le Spirochète se fragmente en plusieurs individus égaux.

Il est prématuré de dire si ces grains qui apparaissent au cours de la division, sont d'origine cytoplasmique ou s'ils dérivent du périplaste. Nous pensons qu'une étude cytologique plus approfondie est nécessaire pour nous éclairer sur le processus exact de la division transversale binaire ou multiple (1). La réaction de FEULGEN propre à l'acide nucléique, nous apportera peut-être quelque lumière à ce sujet.

(1) Nous avons eu l'occasion d'observer, au cours de la division des Cristispires des Termites, — méthode des frottis fixés aux vapeurs d'acide osmique et colorés par l'hématoxyline ferrique — des images en V ou en Y. Au niveau du coude, le schizoplaste semblait former une charnière, tandis que les deux extrémités libres étaient enroulées entre elles.

Dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons encore préciser la nature exacte des inclusions granulaires chromatophiles qui ont été observées chez *Sp. anserinum* par ZETTNOW, chez *Tr. gadi* par DUBOSCQ et LEBAILLY et qui ont été interprétées comme des grains de volutine (métachromatine de Guilliermond) ou comme des noyaux.

Ces considérations nous amènent à résumer les divers modes de la division transversale chez les Spirochètes.

Nous avons vu que la division transversale peut être binaire ou multiple. Dans le premier cas, le Spirochète en voie de multiplication donne naissance à deux Spirochètes égaux; dans le second cas, le parasite initial se fragmente en plusieurs Spirochètes de longueur égale. La division binaire a été signalée depuis fort longtemps par les chercheurs qui ont étudié ces organismes. La division multiple a été bien décrite par EHRENBERG, ZUELZER, SCHAUDINN chez *Sp. plicatilis*, par ZUELZER, chez *Sp. ictéro-hemorragiae*, par KRZYSTAŁOWICZ et SIEDLECKI chez *Tr. pallidum*, par KERMORGANT chez le Spirochète dit des oreillons (?).

Le même phénomène a été également retrouvé par HARTMANN et MÜHLENS chez les Spirochètes des dents, par DUBOSCQ et LEBAILLY chez les Spirochètes des Poissons de Mer, et par HOLLANDE chez les Spirochètes des Termites et chez *Cr. zapetos*.

Le processus de la division égale (Pl. I, fig. 1), simple ou multiple (homotypique) a été bien étudié par SÉGUIN chez plus de dix espèces commensales de l'Homme, obtenues en culture pure.

À côté de ce mode de multiplication, SÉGUIN a décrit la division inégale simple ou multiple (hétérotypique) : les nouveaux parasites sont alors de taille inégale. On peut alors observer sur les frottis imprégnés à l'argent des images telles qu'un Spirochète de taille normale relié à un microspirochète de quelques tours de spire, puis à un granule spirochétogène et enfin à un autre microspirochète. Ces différentes formations sont reliées par un filament très fin et ondulé, constitué par le périplasme étiré.

C'est au cours de la division inégale multiple, observée dans les cultures âgées de Spirochètes, qu'apparaissent les granules spirochétogènes (Pl. I, fig. 2, 3, 4; Pl. II, fig. 5; Pl. III, fig. 10; Pl. IV, fig. 13, 14).

Ces faits ont été confirmés par MANOUÉLIAN en 1940 chez *Tr. pallidum*. Nous-même avons retrouvé des images identiques chez *Tr. pallidum*, *Sp. duttoni*, *Sp. gallinarum* et *Sp. hispanica*. Nous adopterons la classification de SÉGUIN (homotypique et hétérotypique) bien que ces termes aient déjà été employés pour décrire les deux divisions réductionnelles.

Ces deux processus de multiplication homotypique et

hétérotypique alternent aussi bien *in vitro* que *in vivo*. Nous les avons groupés dans le tableau ci-contre.

TABLEAU II
La division chez les Spirochètes

égale	homotypique (Séguin) ou normale (Manouélian)	simple : 2 tronçons égaux multiple : n tronçons égaux	s'observe dans les cultures jeunes et dans les lésions en pleine évolu- tion.
inégaie	hétérotypique (Séguin) ou anormale (Manouélian)	simple : 2 tronçons inégaux multiple : n tronçons inégaux	s'observe dans les cultures âgées et dans les lésions anciennes ou dans les tissus d'animaux en cours de traite- ment.



TROISIEME PARTIE

Technique d'imprégnation argentique Milieux de culture des Spirochètes sanguicoles

Avant d'entrer dans le détail de nos recherches personnelles, nous croyons utile d'indiquer la technique d'imprégnation argentique de P. SÉGUIN et de rappeler les différents milieux de culture employés par les chercheurs qui étudièrent les Spirochètes sanguicoles. Nous les grouperons en cinq paragraphes, par ordre de perfectionnement.

A. — Technique d'imprégnation de SÉGUIN (*loc. cit.* p. 838) :

« Pour mettre en évidence les granules spirochètogènes sur frottis par la méthode des imprégnations argentiques, j'utilise un procédé dérivé à la fois de la technique de Fontana-Tribondeau et de celle de Van Ermengen. Cette technique, qui constitue un procédé de choix pour la coloration des cils microbiens, permet de déceler les granules spirochètogènes, à la condition expresse que les préparations soient parfaitement réussies. C'est dire l'importance qu'il y a à suivre rigoureusement les indications données :

1° Le matériel doit être débarrassé de toute trace de bouillon, gélose, sérum, etc... Pour ce faire, lorsqu'il s'agit par exemple de cultures en milieu liquide, celles-ci sont soigneusement lavées dans l'eau physiologique stérile, par centrifugations successives. Après deux lavages le culot est repris dans quelques gouttes d'eau distillée. L'émulsion est vérifiée au fond noir. Elle ne doit être ni trop riche en Spirochètes, pour que le fond de la préparation reste pur, ni trop pauvre

en microbes, ce qui rendrait les recherches longues et difficiles.

2° Des gouttelettes d'une émulsion convenable sont disposées en lignes sur une lame parfaitement propre. Les frottis humides sont fixés par les vapeurs de l'acide osmique. Puis, après dessiccation, la préparation est traitée par quelques gouttes d'alcool absolu qu'on laisse évaporer sur la lame.

3° Le mordantage s'effectue, comme pour la coloration des cils, par chauffage modéré jusqu'à émission des vapeurs. Temps moyen : environ dix minutes.

La préparation est alors lavée à grande eau (eau de robinet, puis eau distillée). Elle doit être débarrassée de tout excès de mordant, sinon un précipité fâcheux se produirait en présence du nitrate d'argent.

4° L'imprégnation elle-même est réalisée dans l'argent ammoniacal, préparé suivant la formule bien connue de Fontana-Tribondeau. Le réactif versé sur la lame, doit rester en contact dix minutes environ. Les gouttelettes desséchées apparaissent sur la lame en formant des lunules d'un brun plus ou moins foncé, suivant la richesse en Spirochètes de la dilution microbienne.

5° On procède alors à un virage rapide par le chlorure d'or puis par le chlorure de platine. On verse sur la lame quelques gouttes de chlorure d'or (solution à 1 p. 200) et on lave immédiatement. Le frottis vire du brun au noir. On éclaircit le fond de la préparation avec quelques gouttes de chlorure de platine (solution à 1 p. 400) et on lave. Il arrive assez souvent que l'éclaircissement par le chlorure de platine dépasse légèrement l'effet voulu. On renforce dans ce cas par le Ziehl dilué. On lave. On sèche.

La préparation bien séchée est recouverte d'une lamelle lutée au baume neutre. Conservés à l'abri de la lumière, les frottis colorés restent intacts plusieurs années.

Les Spirochètes et les granules sont colorés en noir profond. Les filaments ondulés, en gris. Le fond est très clair et donne des images bien contrastées, faciles à photographier ».

B. — Milieux de culture employés pour l'étude des Spirochètes sanguicoles

I. *Milieux au sang citraté.* — En 1905 et 1906, NORRIS, PAPPENHEIMER et FLOURNEY ont observé la multiplication de *Sp. novyi*, *in vitro*, dans des tubes contenant du sang citraté d'Homme ou de Rat auquel ils avaient ajouté quelques gouttes de sang de Rat infecté, citraté également. Mais les repiquages se sont arrêtés dès le second tube. Le sang citraté de Rat

infecté, mais non dilué, conservé à la température du laboratoire s'est montré infectant au bout de six jours.

Les essais de culture de BORREL et BURNET n'ont guère été plus encourageants, puisque les auteurs ne sont jamais parvenus à obtenir de « véritable culture en série » (PETTIT, 1929, p. 78).

PONSELLE (1910) avait constaté que les Spirochètes s'agglutinaient et s'immobilisaient rapidement dans le sang conservé *in vitro*, sans doute par suite de la glycolyse qui se produisait. En ajoutant à ce sang un mélange à volume égal d'une solution déterminée de glucose ($\Delta = 56$) et d'eau physiologique à 0,9 %, PONSELLE avait constaté une reviviscence des parasites immobilisés. Mais les Spirochètes se sont montrés incapables d'assimiler directement le glucose et ce phénomène ne pouvait avoir lieu qu'en présence d'hématies ou de poudre de foie qui renfermaient un catalyseur propre à cette assimilation.

II. *Milieux au sérum.* — LEVADITI (1906) a observé la multiplication de *Sp. marchouxii* et de *Sp. obermeieri* dans de la gélose glucosée ou du sérum de Macaque ou du Sérum de Poule chauffés à 70° C. placés dans des sacs de collodion. Ces sacs, à leur tour, étaient introduits dans le cœlome du Lapin.

NOVY et KNAPP (1906) confirment les essais de culture de LEVADITI. Du sang de Rat infecté par *Sp. obermeieri* est mélangé avec du sang de Rat sain et placé dans des sacs de collodion. Les sacs sont ensuite inclus dans le cœlome d'un Rat sain. Par ce procédé, NOVY et KNAPP n'ont pu faire que 20 passages en 68 jours.

La culture était peu abondante, mais demeurait pathogène pour le Rat. La culture dans des sacs de collodion durait en moyenne sept jours, alors que dans la gélose au sang, les Spirochètes demeuraient virulents pendant 30 jours. Cette virulence s'est maintenue pendant 40 jours dans du sang défibriné de Rat infecté.

NOGUCHI (1912 c) est parvenu à cultiver *Sp. gallinarum*, *Sp. duttoni*, *Sp. obermeieri*, *Sp. novyi* et *Sp. kochi* dans un milieu composé comme suit :

Eau physiologique stérile.....	80
Sérum de Lapin stérile.....	10
Gélose à 2 % ($pH = 7,2$) fondue et refroidie à + 45°..	10
Solution stérile d'hémoglobine.....	0,5

Dans ce milieu semi-solide, recouvert d'un demi-centimètre d'huile de vaseline stérile, lesensemencements ont lieu avec quelques gouttes de sang citraté ou de culture. La solution d'hémoglobine est constituée par une partie de sang défibriné de Lapin pour trois parties d'eau distillée stérile.

NOGUCHI a observé la désintégration des parasites dès le 8^e ou 9^e jour.

Le milieu d'UNGERMANN (1918) est constitué par du sérum de Lapin jeune, inactivé à 58°-60° et dilué au 1/5^e dans la solution de Ringer. Dans de petits tubes de 9 mm. de diamètre, on verse 0,5 cc. à 1 cc. de sérum ainsi traité que l'on recouvre d'une couche d'huile de vaseline. Au moment de l'emploi, il faut ajouter au milieu 1 goutte de sang frais pur.

La température favorable à la multiplication de *Sp. gallinarum* est 37° C.; mais à 30° C. les parasites se conservent plus longtemps. Les repiquages doivent être faits tous les 5 jours avant que la culture n'ait atteint son plein développement.

Par ce procédé, UNGERMANN a pu, pendant deux ans, effectuer 140 passages de *Sp. gallinarum* et 52 passages de *Sp. obermeieri*.

PETTIT (1929, IV, p. 32) rapporte que les expériences de UNGERMANN ont été confirmées par ARISTOWSKY, BLAGOWETSCHENSKY, BJELKOFF, SCHUHALTER, KLIGER et ROBERTSON, et enfin par ILLERT.

KLIGER et ROBERTSON (1922) ont réussi des cultures de *Sp. obermeieri* dans le milieu suivant : sérum de Lapin ou de Cheval, ou liquide d'ascite dilué à 1/2 ou au 1/3 dans de l'eau physiologique et additionné d'une solution de peptone à 10 %, à raison d'un cc. de cette solution pour 10 cc. de milieu. Le liquide est placé dans des tubes de 10 mm. de diamètre sur une hauteur de 4 cm. environ et recouvert d'huile de vaseline stérile. Au moment de l'ensemencement (1 goutte de sang infectieux par tube), il faut ajouter 1 goutte de sang de Lapin. La température optima est de 28-30° C. Le milieu peut également être additionné d'une petite quantité de fibrine ou de gélose en solution à 0,5-0,10 %.

La culture de *Sp. hispanica* a été obtenue pour la première fois par AZNAR (1926), puis par LAPIDARI et SPARROW (1928) et enfin par TALICE et SURRACO (1929) dans le milieu d'UNGERMANN.

TALICE et SURRACO (1929) ont obtenu de meilleurs résultats en se servant du milieu d'UNGERMANN simplifié et ne renfermant que du sérum de Lapin non inactivé, sans addition de globules rouges. Les tubes étaient placés à 37° C. et recouverts d'une couche d'huile de vaseline. Ces auteurs auraient ainsi maintenu la virulence de *Sp. hispanica* pendant 160 jours après 43 passages, en pratiquant des repiquages tous les 3 ou 4 jours.

HINDLE (1935) rapporte que MORODER MUEDRA, en 1929, a cultivé un Spirochète récurrent dans un milieu composé de sérum de Cheval ou de Lapin, inactivé et dilué dans de l'eau physiologique. MORODER MUEDRA aurait réussi à infecter la Souris avec des cultures dans lesquelles le microscope ne

décélait pas la présence de Spirochètes. Les animaux ainsi infectés auraient présenté des parasites dans le sang circulant au bout de 2 à 4 jours.

III. *Milieux renfermant des fragments d'organes.* — NOGUCHI a proposé un milieu différent du premier pour la culture des Spirochètes sanguicoles.

Un fragment de rein frais de Lapin est placé dans le fond d'un tube et recouvert de 15 cc. de liquide d'ascite non chauffé. Le milieu estensemencé avec quelques gouttes de sang citraté infecté.

Le rein de Lapin peut être remplacé par du muscle pectoral de Poulet. A la température de 37° C., les Spirochètes se multiplient dès la 24^e heure jusqu'au 5^e jour; mais dès le 6^e jour, les parasites commencent à dégénérer. En milieu anaérobie, aucun germe ne se développe. Toutefois, il faut verser un tampon d'huile de vaseline à la partie supérieure du milieu, afin d'éviter un excès d'oxygène.

Autre remarque : tandis que *Sp. gallinarum* dégénère lentement, *Sp. duttoni*, *Sp. kochi*, *Sp. obermeieri* et *Sp. novyi* périssent brusquement.

HATA (1913) a cultivé *Sp. recurrentis* dans un milieu composé par du sérum de Cheval dilué dans deux volumes d'eau physiologique et coagulé lentement à 70° C. Dans le fond du tube, HATA introduisait un fragment de « couenne » de sang de Cheval. Les cultures se seraient montrées virulentes pendant soixante jours à la température du laboratoire.

Sp. recurrentis a été cultivé en 1926, par ARISTOWSKY et HOELTZER dans les deux milieux suivants :

1^{er} milieu : Sérum de Cheval jeune dilué au tiers dans de l'eau physiologique. Au moment de l'emploi, il convient d'ajouter une petite quantité de sang total d'Homme ou de Cheval, ou même de blanc d'œuf.

2^e milieu : De petits fragments de cerveau de Lapin ou de Veau sont placés dans de petits tubes contenant de l'eau physiologique. Ces tubes sont stérilisés à 120° C. pendant 15 minutes. Au moment de pratiquer l'ensemencement, l'eau physiologique est remplacée par un volume égal de sérum frais de Cheval, et le tout est recouvert d'un tampon d'huile de vaseline. Les parasites se développent bien à 35° C.

Les ensemencements doivent être faits avec 1 cc. de culture et les repiquages doivent avoir lieu tous les deux jours. Des cultures de 48 heures conservées à la glacière pendant deux semaines, demeurent pathogènes pour la Souris.

SÉGUIN (1930) a obtenu des cultures de *Sp. gallinarum* dans le milieu au bouillon-sérum-rein de Lapinensemencé avec

du sang de Poule infectée. Le milieu est formé par une partie de sérum de Lapin pour trois parties de bouillon ordinaire. Dans le fond du tube, on dépose un fragment de rein frais de Lapin.

En 1933, MANTEUFEL et DRESSLER réussissaient à conserver une souche de *Sp. hispanica* virulente après 38 passages dans un milieu composé de solution de Tyrode renfermant des fragments de membrane allantoïde et préparé ainsi : après 11 à 12 jours d'incubation, la membrane allantoïde d'un œuf est prélevée. A 0,15 cc. de tissu allantoïde on mélange 5 cc. de solution de Tyrode et 1 cc. de sérum de Lapin. Le milieu estensemencé avec I ou II gouttes de sang citraté infecté. La température favorable est de 30-35° C.

IV. *Milieux au blanc d'œuf*. — Le milieu de GALLOWAY (1925) est formé par du blanc d'œuf coagulé en position inclinée dans des tubes à hémolyse. La position inclinée permet d'obtenir la plus grande surface possible. On ajoute alors 5 cc. de sérum de Lapin dilué au 1/5 ou de sérum de Cheval dilué au 1/10 chauffé pendant une heure à 58-60° C. Le milieu est recouvert d'un tampon d'huile de vaseline stérile. La température optima est de 30-32° C. Le milieuensemencé d'une goutte de sang de malade doit être additionné d'une goutte de sang frais de Lapin, de Singe ou d'Homme. GALLOWAY a pu réussir jusqu'à 19 repiquages en 67 jours, pour *Sp. duttoni*. Les Spirochètes se sont montrés virulents même après trois mois de passages; mais les repiquages doivent avoir lieu vers le quatrième jour après l'ensemencement.

Sp. gallinarum se cultive dans ce milieu et ne semble pas exiger une anaérobiose complète, puisque GALLOWAY a pu effectuer sept passages en milieu aérobie.

De nombreuses formes de dégénérescence apparaissent après le 12^e jour de culture. Inoculés à un animal neuf, les parasites ont alors perdu leur pouvoir pathogène.

MATHIS et GALLOWAY (1926) ont ainsi modifié le milieu primitif de GALLOWAY : dans des tubes à hémolyse on coagule du blanc d'œuf en position inclinée, puis sur une hauteur de 5 à 6 cm., on ajoute du sérum de Lapin ou d'Homme dilué au 1/5 dans de l'eau physiologique ou dans du sérum de Ringer. Les milieux ainsi préparés sont ensuite tyndallisés à 60° C.

Immédiatement après avoir pratiqué l'ensemencement de quelques gouttes de sang infecté, on ajoute au milieu, III à IV gouttes de sang frais de Lapin. Enfin, une couche d'huile de paraffine recouvre le milieu. Les tubes sont ensuite placés à l'étuve à 37° C.

Par ce procédé MATHIS et GALLOWAY ont réussi à cultiver *Sp. crociduræ* A. Léger, 1917 (= *Sp. duttoni*).

En utilisant le milieu de GALLOWAY, BRUYNOGHE, de GREEF et DUBOIS (1927) sont parvenus à obtenir des hémocultures

positives à partir de sang de malades atteints de fièvre récurrente. Les parasites se sont développés aussi bien avec du sang de malades prélevé pendant les accès thermiques qu'avec du sang de malades en période apyrétique, et cela au bout de 3 à 4 jours d'étuve à 37° C.

JAHNEL (1933) a obtenu des cultures de *Sp. gallinarum* dans un milieu au blanc d'œuf additionné de sérum de Lapin dilué. La souche était encore virulente après 43 subcultures, à la température de 33° C., à la condition de pratiquer des repiquages tous les quatre jours. En effet, avec des cultures âgées de 8 à 16 jours, JAHNEL n'a pas réussi à infecter la Poule. Une telle inoculation confère l'immunité aux Oiseaux. Ces cultures âgées peuvent acquérir de nouveau le pouvoir pathogène si elles sont repiquées tous les quatre jours ou après une série de passages sur l'Oiseau.

Les souches conservées à la température de 37°-40° C. perdent également la propriété d'être infectantes pour les Oiseaux. Des cultures de 3 jours à 33° C. et conservées pendant 15 jours à la glacière sont demeurées virulentes.

LI YUAN PO (1933) a réussi à maintenir la virulence de *Sp. recurrentis* après 38 passages dans un milieu nouveau préparé avec les constituants de l'œuf de Poule.

Un œuf de Poule suffit pour préparer 15 tubes. Le blanc est introduit dans les tubes et coagulé à 80-85° C. pendant 30 minutes. Le jaune est placé dans un ballon contenant 400 cc. d'eau physiologique à 8 ‰, stérile. Une fois le mélange fait, le ballon est placé à la glacière. Le pH du liquide est d'environ 7 et s'y maintient pendant 2 mois. Dans chaque tube renfermant du blanc d'œuf coagulé, on introduit 5 cc. du mélange jaune-eau physiologique. Les tubes sont alors chauffés à 55° C. pendant 30 minutes.

Après ensemencement de I à II gouttes de sang infectieux, il faut recouvrir les milieux d'huile de paraffine.

La température favorable est de 35°-36° C. Les repiquages doivent avoir lieu tous les 3 à 5 jours avec 0,5 cc. d'une bonne culture. Il faut ajouter en outre, I goutte de sang citraté d'Homme ou de Lapin. Le sang citraté est un mélange de 2 cc. de sang avec 0,2 cc. de citrate de soude à 10 % contenant 10 % de glucose.

En 1936, LI YUAN PO a apporté une modification à son milieu. Le jaune d'œuf est placé dans un ballon contenant 400 cc. d'eau physiologique stérile à 8,5 ‰. On ajoute environ 5 cc. de ce mélange à chaque tube renfermant le blanc d'œuf préalablement coagulé à 80°-85° C. pendant 20 minutes. Le tout est maintenu à 55° C. pendant deux heures, après quoi on ajoute un tampon d'huile de paraffine stérile. Au moment de pratiquer des subcultures, on ne doit pas oublier d'ajouter I ou II gouttes de sang citraté par tube ensemencé.

SCHARRER (1934) rapporte avoir obtenu de bons résultats

de culture de *Sp. gallinarum* avec le milieu de LI YUAN PO. à la condition de pratiquer des repiquages tous les 4 ou 8 jours et de maintenir les cultures à 33° C.

Le milieu de GALLOWAY a été modifié par MARCHOUX et CHORINE (1933 b) pour la culture de *Sp. gallinarum*. En voici sa composition :

Sérum de Cheval chauffé 3 fois pendant 1/2 heure	
à 57-58°.....	10 cc.
Ou Sérum de Lapin ou de Bœuf chauffé.....	20 cc.
Eau physiologique à 9 ‰, stérile.....	100 cc.
Sol. à 10 % de peptone de Witte ou de Chapoteaut	
stérilisée	2 cc.
Glycogène, sol. à 2 %, stérilisée par filtration.....	5 cc.

Le milieu est réparti en tubes de 12 mm. dans lesquels du blanc d'œuf a été préalablement coagulé en position inclinée de façon à présenter le maximum de surface.

Le pH favorable est réglé au voisinage de 7,5-7,7.

La partie supérieure du tube est recouverte d'un tampon d'huile de vaseline stérile, sur une hauteur d'un centimètre.

Les cultures, au départ, ne réussissent que dans le milieu renfermant du sérum de Lapin. Le sérum de Bœuf ou de Cheval convient mieux pour les repiquages.

Enfin, la température optimum pour le développement de *Sp. pallinarum* est de 37° C.

MARCHOUX et CHORINE ont remarqué :

1° Que les Spirochètes ne se multipliaient plus quand le pH du milieu atteignait 8 ou quand il tombait à 6,5. Dans les cultures âgées de 13 à 15 jours, le pH tendait vers l'acidité;

2° Que le glycogène favorisait la multiplication des parasites, alors que le glucose l'entravait;

3° Que les repiquages de cultures de 4 jours fournissaient des cultures abondantes. Les cultures jeunes de 4 à 9 jours infectaient la Poule, alors que les cultures de 17 à 21 jours provoquaient l'immunité. L'inoculation de cultures de 25 et 26 jours ne provoquaient ni immunité, ni infection.

V. *Milieus aux tissus embryonnaires*. — CHABAUD (1939) a observé le développement de *Sp. duttoni* sur l'embryon de Poule. Les parasites apparaissent dès la 86^e heure et atteignent le maximum de leur multiplication vers le 5^e jour, et cela d'autant mieux que l'embryon est inoculé avec du sang défibriné. Mais alors que le Poussin résiste à l'infection, l'embryon succombe.

Plus récemment, OAG (1939) a fait des tentatives de culture de *Sp. duttoni* sur embryon de Poulet. Il a remarqué que les parasites envahissaient le courant sanguin de l'embryon. De

même que CHABAUD, OAG a remarqué que si l'embryon est sensible à l'infection, l'inoculation à six Poussins récemment éclos et à deux Oiseaux adultes s'est montrée négative.

* *

En résumé, si nous examinons les divers milieux employés pour la culture des Spirochètes sanguicoles, nous constatons que les cultures ne réussissent que sous certaines conditions.

Tout d'abord, l'anaérobiose complète n'est pas indispensable. Cependant un excès d'oxygène nuit au développement des parasites, d'où l'adjonction au milieu, d'un tampon d'huile de vaseline ou de paraffine. L'huile de vaseline ou de paraffine ne créent pas l'anaérobiose comme il est courant de le lire, mais évite une trop rapide évaporation des constituants liquides du milieu et une trop grande dissolution de l'oxygène dans les tubes. Une telle évaporation amène *a fortiori*, des changements physico-chimiques qui entravent le développement des microorganismes.

La présence de sang frais ou d'hémoglobine est indispensable. En effet, les repiquages ne peuvent avoir lieu que si l'on ajoute I ou II gouttes de sang frais d'Homme, de Singe, de Poule, ou mieux, de Lapin selon l'organisme à étudier. Le sang frais de Poule convient particulièrement pour *Sp. gallinarum*, tandis que le sang total de Lapin peut être utilisé pour la culture des trois Spirochètes récurrents : *Sp. duttoni*, *Sp. hispanica* et *Sp. gallinarum*.

En 1931, LANDAUER a remplacé avantageusement le sang frais par de l'hémoglobine ou par de l'extrait globulaire de LEGROUX à pH = 7,2.

La présence d'organes frais ou chauffés, tels que les fragments de cerveau, de rein ou de muscle ne sont pas indispensables pour la culture des Spirochètes sanguicoles. Par contre, un fragment de rein de Lapin ou de Mouton est nécessaire pour la culture des Spirochètes commensaux, comme l'ont bien montré SÉGUIN et VINZENT.

L'emploi de sérum est beaucoup plus important. Avec du sérum de Lapin jeune, les cultures sont riches en parasites. Le sérum de Cheval ou de Bœuf est moins favorable, non seulement au départ, mais aussi aux repiquages des Spirochètes sanguicoles. Le sérum doit être employé dilué dans un volume déterminé d'eau physiologique ou mieux de liquide de Ringer.

Le rôle du fragment d'organe et du sérum n'est pas encore bien précisé. Celui du blanc d'œuf ne l'est pas davantage malgré l'intérêt qu'il présente. En effet, les milieux de GALLO-WAY ou de MARCHOUX et CHORINE, se prêtent mieux à la culture de *Sp. gallinarum* que le milieu de UNGERMANN, par exemple.

L'addition aux milieux d'une petite quantité de glucose

a été conseillée par PONSELLE. Mais MARCHOUX et CHORINE ont obtenu de meilleurs résultats en remplaçant le glucose par une substance hydrocarbonée, indispensable au bon fonctionnement des cellules, le glycogène.

Enfin et surtout, les milieux fraîchement préparés doivent être réglés à un pH voisin de 7,5-7,7.

KLIGER et ROBERTSON ont constaté que si le pH du milieu au sérum de Lapin est compris entre 7,9 et 8,2, les Spirochètes meurent rapidement. Mais si ce $pH = 6,9-7,6$, les parasites sont très actifs.

Plus tard MARCHOUX et CHORINE ont recommandé l'emploi de milieux ajustés à $pH = 7,5-7,7$.

KLIGER et ROBERTSON ont pu maintenir le pH initial dans les tubes de culture par addition d'une solution de peptone à 1 %, de phosphates ou d'ovalbumine.

Un pH mal ajusté ou déréglé provoque rapidement l'agglutination, puis la mort des Spirochètes par un processus analogue à celui décrit par E. CHATTON pour *Tr. drosophilae* (1912). Les milieux au sérum de Lapin qui sont trop acides peuvent être tamponnés par une solution de bicarbonate de soude ou par une solution décinormale de soude.

Du point de vue pratique, il est recommandé de se servir de tubes étroits et longs (largeur = 12 mm. et longueur = 19 cm.) ce qui permet une appréciable économie de sérum de Lapin et de blanc d'œuf. L'usage de milieux contenus dans des tubes à hémolyse n'est pas à prescrire quand on veut entretenir un Spirochète vivant pendant plusieurs générations.

QUATRIEME PARTIE

Recherches personnelles

Cette partie est consacrée à l'étude du cycle évolutif des Spirochètes sanguicoles, et plus particulièrement de *Sp. hispanica*.

Nos recherches en matière de syphilis, avec la collaboration de CLÉMENT SIMON, ont fait l'objet de publications antérieures et nous en avons donné un résumé dans la première partie de ce mémoire. Nous retiendrons seulement que, chez *Tr. pallidum* :

— Le spirochétogène peut être décelé, chez l'Homme, dans les tissus et les humeurs au cours de divers stades de la maladie;

— Le spirochétogène constitue une forme vivante du parasite;

— Le diagnostic de syphilis peut être établi par la recherche du spirochétogène, lorsque la clinique et les examens classiques de laboratoire demeurent muets;

— Le spirochétogène apparaît *in vivo* au cours de la division hétérotypique des formes hélicoïdales.

L'étude du cycle évolutif de *Tr. pallidum* eût été complète s'il avait été possible d'obtenir ce parasite en culture pure. Malheureusement, toutes les tentatives en vue d'isoler une souche de *Tr. pallidum* sont demeurées vaines. Aussi nous avons tourné la difficulté en orientant nos recherches vers l'étude des spirochètes sanguicoles, cultivables et pathogènes pour certains animaux de laboratoire. Ces deux dernières conditions sont indispensables pour connaître la nature pathogène des granules spirochétogènes au cours des expériences de filtration.

Cependant, la taille de ces microorganismes rend difficiles les essais de filtration; d'où le choix de bougies Chamberland L1 ou L1 *bis*. Nous avons été conduits à rejeter les

expériences de culture faites à partir de filtrat, car le blanc d'œuf coagulé-sérum de Lapin dilué de MARCHOUX et CHORINE ne constitue pas un milieu de choix pour le développement de *Sp. duttoni* et de *Sp. hispanica*.

L'ensemble de ces conditions est réalisé par *Leptospira ictero-hemorrhagiae* qui est un parasite cultivable, capable d'être filtré et pathogène pour le Cobaye.

Nous avons étudié successivement *Sp. gallinarum*, *Sp. duttoni* et *Sp. hispanica* (var. *marocana*). Les recherches entreprises chez les deux premiers parasites n'ont pas été poussées aussi loin que celles faites chez *Sp. hispanica*. Le nombre de nos essais menés à bien a été limité par la grande mortalité qui a sévi dans notre élevage. Néanmoins nos expériences vont nous permettre d'une part d'établir des points de comparaison intéressants et d'autre part de tirer des conclusions plus générales.

D'ores et déjà, d'après nos essais de culture et de filtration, nous pouvons dire avec certitude que le cycle évolutif des Spirochètes sanguicoles est sensiblement le même pour les diverses espèces étudiées, avec cependant des variantes suivant les germes considérés et leur aptitude à s'adapter aux milieux artificiels.

Certains points resteront encore à préciser : par exemple, le cycle chez l'Acarien, le mode d'infection par piqûre d'Ornithodores, la forme du virus transmise par le broyat de cerveaux d'animaux (Rats, Souris, Cobayes) infectés et inoculé à un animal neuf, etc.

Dans nos expériences, nous nous sommes servi du milieu de MARCHOUX et CHORINE au sérum de Lapin, réglé à $pH = 7,5-7,7$. Les cultures, placées à l'étuve à $37^{\circ} C.$, étaient recouvertes d'une couche d'huile de vaseline ou de paraffine.

Mais si ce milieu est le meilleur pour la culture de *Sp. gallinarum*, il s'est montré moins favorable pour le développement de *Sp. duttoni* et de *Sp. hispanica*. De plus, ce n'est pas un milieu de conservation pour *Sp. gallinarum*, puisque les subcultures doivent avoir lieu tous les quatre jours, faute de quoi les souches perdent rapidement leurs pouvoirs virulent et pathogène.

Tous nos essais de culture des Spirochètes sanguicoles au sérum coagulé, renfermant ou non un fragment de rein frais de Lapin, ont été voués à l'échec.

A maintes reprises, nous avons pu conserver pendant plus de 15 jours, *Sp. duttoni* ou *Sp. hispanica* dans le milieu de MARCHOUX et CHORINE sans que ces microorganismes aient perdu leur pouvoir pathogène pour la Souris ou le Cobaye. Malheureusement, dans beaucoup de tubes, nous avons pu constater une rapide dégénérescence des parasites, ce qui a rendu les repiquages impossibles.

Autre remarque importante : lorsque les Spirochètes dégèrent rapidement, il est impossible d'observer l'apparition

des spirochétogènes. Ces derniers n'apparaissent que dans les tubes de cultures où les parasites se sont multipliés. Ceci prouve que les spirochétogènes ne sont pas des produits de dégénérescence, comme on aurait pu nous l'objecter. Mais une apparition hâtive de granules spirochétogènes montre que les milieux ne sont pas favorables au bon développement des Spirochètes, ce qui confirme entièrement les expériences de SÉGUIN.

En définitive, le milieu de MARCHOUX et CHORINE n'est pas le milieu parfait pour la culture des Spirochètes sanguicoles, bien qu'il nous ait donné d'assez bons résultats.



CHAPITRE PREMIER

Spirochaeta Gallinarum Blanchard, 1905.

Synonyme : *Spirille des Poules* Marchoux et Salimbeni, 1903; *Spirochaeta marchouxi* Nuttall, 1904; *Spirochaeta gallinarum* (Blanchard, 1905) Stephens et Christophers, 1905; *Spiroschaudinnia marchouxi* Castellani et Chalmers, 1913; *Borrelia gallinarum* (Swellengrebel, 1907) Prévot, 1940.

C'est par l'intermédiaire d'*Argas persicus* Oken, 1818, acarien de la famille des Argasinés, que se transmet aux Oiseaux, la spirochétose souvent mortelle, due à *Spirochaeta gallinarum*. Le rôle de cet arthropode a été mis en lumière par MARCHOUX et SALIMBENI en 1903. *Argas persicus* a été trouvé en Amérique, aux Indes, en Algérie, etc. Nous rappellerons très brièvement l'évolution de cet arthropode dont l'étude complète a été particulièrement bien faite par E. BRUMPT (1936, t. II, pp. 1190-1191). La larve hexapode issue d'un œuf se gorge sur l'Oiseau. La larve gorgée devient, après une mue, une nymphe octopode, laquelle est capable de se fixer sur un Mammifère ou sur un Oiseau. Après une série de mues, précédées d'un repas, la nymphe octopode donne naissance à des formes adultes, capables de s'accoupler et de pondre.

Spirochaeta gallinarum est un microorganisme de forme hélicoïdale, très mobile, ne possédant ni cils, ni flagelles et se déplaçant activement entre les érythrocytes quand on examine au fond noir, entre lame et lamelle, du sang d'animal infectieux. D'une longueur moyenne de 8 à 16 μ , large de 0,25 à 0,30 μ , *Spirochaeta gallinarum* possède 4 à 6 tours de spire. Il ne présente pas le double contour au fond noir.

Ce parasite a été cultivé par NOGUCHI, UNGERMANN, GALLOWAY, JAHNEL, MARCHOUX et CHORINE.

Le milieu de MARCHOUX et CHORINE nous paraît être le meilleur pour le développement de *Spirochaeta gallinarum*. Toutefois, les cultures doivent être repiquées tous les quatre jours, faute de quoi les parasites dégénèrent rapidement : ce n'est donc pas un milieu de conservation.

EXPÉRIENCES DE CULTURE

Le 13 juin 1939, une Poule de 1.750 grammes est mise à piquer par un lot de dix exemplaires d'*Argas persicus* qui

nous a aimablement été remis par le D^r BALTAZARD, de l'Institut Pasteur de Casablanca.

Le 21 juin, la Poule est en état de lipothymie, avec une température de 43° C., et présente les symptômes caractéristiques d'anémie, somnolence, etc... Le sang de l'animal renferme de très nombreux Spirochètes.

Ce même jour l'animal est sacrifié et son sang est ensemencé dans cinq tubes de milieu de MARCHOUX et CHORINE. Les cultures se développent bien à 37° C. à l'étuve et peuvent être repiquées tous les quatre jours pendant vingt-cinq jours. Les repiquages ont montré de nombreux parasites, qui, inoculés au Pigeon, ont déterminé la maladie.

Le 1^{er} juillet, une culture de 10 jours, examinée au fond noir, présente des Spirochètes agglutinés, immobiles. Mais à côté de ces formes on rencontrait des parasites en voie de division hétérotypique. Des frottis, fixés aux vapeurs d'acide osmique et imprégnés selon la technique de P. SÉGUIN, ont montré la présence de granules spirochétogènes caractéristiques. Les Spirochètes étaient à divers stades de développement : les uns en voie de division homotypique, d'autres plus nombreux en voie de division hétérotypique, d'autres encore très fins et peu ondulés. Enfin, nous avons pu voir des formes dégénérées et constituées par un parasite enroulé sur lui-même, ainsi que des formes enroulées plus petites, ressemblant à des masses noires arrondies. Ces formes que l'on observe particulièrement dans les cultures plus âgées, sont incapables de germer pour redonner des Spirochètes typiques. Il est donc vraisemblable que ces masses arrondies sont des formes de dégénérescence, comme l'ont déjà signalé maints auteurs.

EXPÉRIENCE DE FILTRATION

Une culture âgée de 8 jours, diluée au 1/5 dans l'eau physiologique à 8,5 ‰ est mise à filtrer sur bougie Chamberland neuve L2 préalablement mouillée avec de l'eau physiologique. Nous nous sommes servi de l'appareil à filtration de MARTIN.

La filtration est faite à la température du laboratoire, sous une pression négative de 10 cm. de Hg. La filtration a duré sept minutes. Le filtrat, examiné au fond noir ne présentait aucun élément hélicoïdal. Cinq centimètres cubes de ce filtrat, centrifugés rapidement à 4.000 tours/minute pendant dix minutes, sont dilués dans quelques gouttes d'eau physiologique stérile, après décantation du liquide surnageant. Des frottis sont ainsi préparés avec le culot de centrifugation et fixés aux vapeurs d'acide osmique en vue d'une imprégnation argentique selon le procédé de SÉGUIN. Sur les frottis, nous n'avons décelé aucun Spirochète typique, mais seule-

ment quelques granules spirochétogènes possédant un filament très court ainsi que des filaments sans granule.

Ces expériences confirment entièrement les travaux de SÉGUIN : à savoir que dans les cultures jeunes, les divisions selon le mode homotypique sont abondantes, alors que dans les vieilles cultures, les parasites se fragmentent selon le mode hétérotypique. Dans ce dernier cas, il y a production de nombreux granules spirochétogènes. Ces expériences eussent été complètes si le filtrat avait été inoculé à un animal neuf. Et si l'Oiseau avait contracté la maladie, le rôle du granule spirochétogène aurait, de ce fait, été démontré. Malheureusement, les circonstances ultérieures ne nous ont pas permis de poursuivre ces recherches. Aussi, avons-nous recherché à établir le rôle infectieux du spirochétogène de certains Spirochètes sanguicoles, entre autres, en nous adressant à *Spirochaeta duttoni* et à *Spirochaeta hispanica* var. *marocana*.



CHAPITRE II

Spirochaeta duttoni Novy et Knapp, 1906.

Synonyme : *Sp. kochi* Novy, 1907; *Sp. rossi* Nuttall, 1908; *Sp. crocidurae* A. Léger, 1917; *Tr. duttoni* Topley et Wilson; *Borrelia duttoni* (Novy et Knapp) Bergey, Prévot et alt.

Ce Spirochète est l'agent de la Fièvre à Tiques africaine ou Tick fever. La maladie est transmise à l'Homme ou aux animaux de laboratoire par la piqure d'un acarien *Ornithodoros moubata* (Murray, 1877). Après avoir piqué, *O. moubata* se détache, s'accouple et pond. L'œuf se transforme en une larve hexapode. Cette dernière, sans prendre de nourriture, donne une nymphe octopode extrêmement vorace (BRUMPT, 1936, II, p. 1196). La nymphe se gorge plusieurs fois et après des mues successives, arrive à l'état adulte.

Sp. duttoni a une longueur moyenne de 14 à 16 μ , une largeur de 0,2 à 0,5 μ et présente environ 4 tours de spire. Ses extrémités sont pointues et il se divise transversalement. Il se colore par les couleurs d'aniline, plus facilement par le Giemsa ou le nitrate d'argent après mordantage. Ce micro-organisme, doué d'une grande mobilité, serait capable de traverser les filtres Chamberland (BREINL et KINGHORN).

La morphologie du parasite est variable suivant le temps de fixation, le colorant employé et le milieu dans lequel il est prélevé. C'est ainsi que sur des frottis de sang, colorés par le Giemsa, *Sp. duttoni* présente un corps souple avec de grandes ondulations. Par contre, l'examen au fond noir de cultures pures montre un parasite à tours de spire serrés et de forme hélicoïdale. Par ce procédé on observe le phénomène du double contour qui est fréquent chez les gros Spirochètes (*Sp. hispanica*, *Sp. refringens*) et qui n'existe pas chez les Spirochètes d'un diamètre moindre (*Sp. gallinarum*, etc.).

EXPÉRIENCES DE CULTURE

Nous nous sommes servi du milieu indiqué par MARCHOUX et CHORINE pour la culture de *Sp. gallinarum* et les résultats que nous avons obtenus avec cette méthode sont supérieurs à ceux observés par l'emploi du milieu de GALLOWAY ou celui d'UNGERMANN. Les milieux solides ou demi-solides au rein de

Lapin, proposés par NOGUCHI et par SÉGUIN pour d'autres Spirochètes, nous ont fourni des cultures très peu abondantes, et, dans la plupart des cas, les formes dégénératives apparaissent dès le 2^e ou le 3^e jour.

Cependant, il y a lieu de remarquer que si *Sp. gallinarum* se développe facilement dans le milieu de MARCHOUX et CHORINE, la culture des Spirochètes sanguicoles de l'Homme est généralement moins abondante et moins constante. Ces inconvénients seraient évités par la préparation de milieux nouveaux propres au développement de tels microorganismes.

Dans le milieu de MARCHOUX et CHORINE, avons-nous dit, *Sp. duttoni* se multiplie mais moins abondamment que ne le font dans un milieu approprié les Spirochètes commensaux de l'Homme. Il n'est pas rare, en effet, de voir *Sp. duttoni* périr rapidement dans certains tubes de milieu de MARCHOUX et CHORINE. Nous pensons que dans ce cas, le pH du milieu se modifie très rapidement puisque l'examen au fond noir nous montre des parasites agglutinés et pour la plupart immobiles. L'immobilité croît au point de rendre impossible les subcultures.

Le repiquage de cultures âgées de plus de 20 jours, dans lesquelles les Spirochètes sont immobiles, agglutinés, granuleux, disposés en boucles est voué à l'échec. Par contre, avec des cultures de 8 à 12 jours où les parasites sont en voie de division hétérotypique, avec formation de granules spirochètogènes, les repiquages réussissent. Ceci plaide bien contre l'existence des formes dites « kystiques ».

En définitive, le milieu de MARCHOUX et CHORINE n'est pas le plus favorable à la multiplication de *Sp. duttoni*. Ce n'est pas non plus un milieu de conservation; mais si l'on a soin de pratiquer de fréquents repiquages, on peut, avec succès, entretenir une souche isolée pendant plusieurs générations.

Chez l'animal (Rat ou Souris), le sang est prélevé par ponction intracardiaque à l'aide d'une seringue de 5 cc. montée d'une aiguille courte de 7/10 à 8/10 de mm. de diamètre et préalablement stérilisée à l'autoclave. Pour éviter la coagulation du sang dans la seringue, il est recommandé de graisser le piston avec un peu d'huile de vaseline ou de paraffine avant de porter le tout à la stérilisation. Il est préférable de faire cette opération sur l'animal vivant dont on aura eu soin d'exciser la peau et de récliner les muscles et la paroi thoracique pour bien mettre le cœur à nu. Après cautérisation du péricarde à l'aide d'une spatule portée au rouge dans la flamme du Bunsen, l'aiguille est introduite dans le ventricule droit. Le sang est aspiré dans la seringue et l'animal ne tarde pas à succomber. Toutes ces opérations doivent être faites aussi stérilement que possible et dans un temps très court.

Le sang une fois recueilli est soit introduit directement, à raison de quelques gouttes par tube, dans les milieux de

culture, soit défibriné dans un ballon contenant des perles de verre, soit mélangé à une solution de citrate de soude stérile, à 10 %.

Les tubes ensemencés sont ensuite recouverts d'huile de vaseline ou de paraffine stérile sur une hauteur de 1 cm. et portés à l'étuve à 37° C. La température du laboratoire ne convient pas pour le développement de *Sp. duttoni*.

Un ensemencement trop riche favorise l'agglutination, puis l'immobilisation des parasites. Il ne faut donc ensemencer que III à VI gouttes de sang infectieux et pratiquer des repiquages tous les 4 ou 5 jours. Nous avons pu ainsi conserver la virulence de *Sp. duttoni* pendant deux mois. Les cultures étaient pathogènes pour le Rat ou la Souris.

Dans les cultures jeunes (1 à 4 jours) on observe la division transversale homotypique. Mais dès que les cultures vieillissent (vers le 7^e ou 8^e jour, et plus) les Spirochètes se divisent selon le mode hétérotypique (Pl. X, fig. 38), avec formation de granules spirochétogènes et de microspirochètes (Pl. X, fig. 40).

Dans le milieu de MARCHOUX et CHORINE, nous avons réussi à conserver des parasites vivants et pathogènes jusqu'au 25^e jour. Mais cette persistance est exceptionnelle, car le pH du milieu se modifie très rapidement et tend vers l'acidité.

Pour bien mettre en évidence le granule spirochétogène de *Sp. duttoni*, il faut avoir recours comme pour tous les spirochétogènes, à la technique de SÉGUIN que nous avons décrite plus haut : centrifugation, dilution, fixation et imprégnation argentique des cultures.

Le spirochétogène présente une partie granulaire ronde, plus fréquemment ovoïde, très argyrophile, munie d'un filament ondulé à tours de spire lâches. Le diamètre du grain correspond au diamètre de *Sp. duttoni* (Pl. VI, fig. 23). Libre ou appendu à un Spirochète typique, le spirochétogène se forme par division hétérotypique des formes hélicoïdales. Il n'est pas rare d'observer la formation de deux spirochétogènes aux pôles d'un même Spirochète, et on conçoit que de telles formations aient pu être interprétées comme des flagelles.

Expérience n° 1. — Le 15 juin 1938, le P^r BRUMPT nous remet un lot de six exemplaires d'*O. moubata* (n° 1284 XXIV) infectés par *Sp. duttoni* (souche Ouzilleau, Tunis). Une Souris est maintenue sur le décubitus dorsal sur une planchette de liège et la peau de son abdomen est épilée. Un petit cylindre de verre est collé à ce niveau à l'aide de paraffine fondue. Les Ornithodores, préalablement portés pendant une vingtaine de minutes à l'éluve à 37° C. sont placés à l'intérieur du cylindre. Ils ne tardent pas à se gorger de sang, et leur repas accompli, ils rejettent du liquide coxal et se détachent de la Souris. Le liquide coxal examiné au fond noir, ne montre la présence d'aucun élément hélicoïdal caractéristi-

que. L'infection peut être également réalisée par inoculation à la Souris, du produit de broyat dilué de quelques exemplaires d'*Ornithodores*.

Le 22 juin, la Souris présente des Spirochètes (++) dans le sang circulant (1). L'animal est sacrifié et son sang prélevé stérilement par ponction intracardiaque, est ensemencé dans quatre tubes de milieu de MARCHOUX et CHORINE réglés à $pH = 7,6$.

Les parasites se développent bien. Dès le 3^e jour, nous prélevons 1 cc. de cette culture et nous faisons des frottis selon la technique de SÉGUIN. Les Spirochètes ont une structure hélicoïdale, leurs tours de spire sont réguliers et on observe de très nombreux parasites en voie de division homotypique simple ou multiple.

Expérience n° 2. — Le 4 novembre, six nymphes d'*O. moubata* (n° 276 XXV) infectées par *Sp. duttoni* (souche laboratoire) nous sont remises par le P^r BRUMPT. Trois nymphes sont lavées pendant 7 minutes dans 10 cc. d'eau oxygénée à 10 vol., puis lavées dans 10 cc. d'eau physiologique stérile et enfin broyées. Le broyat est dilué dans 3 cc. d'eau physiologique à 9 ‰ et une partie est injectée à deux Souris n°s 21 et 23.

Le 7 novembre, les deux Souris contractent la maladie et présentent quelques Spirochètes dans le sang (+). On pratique alors avec quelques gouttes de sang infectant, des passages à cinq Souris, n°s 24, 25, 26, 27, 28.

Expérience n° 3 (Culture à partir de sang d'*Ornithodores*). — Le 4 novembre, deux tubes de milieu de MARCHOUX et CHORINE ont été ensemencés avec la seconde partie du broyat des nymphes. Mais malgré la désinfection de la chitine faite avec de l'eau oxygénée et bien que le broyat ait été pratiqué dans des conditions stériles, nous n'avons pas réussi à obtenir des cultures pures à partir d'un tel matériel. Il semble que les *Ornithodores* soient trop contaminés par des microbes saprophytes pour que l'on puisse obtenir des cultures pures de Spirochètes.

Des prélèvements exécutés selon la méthode employée par MARCHOUX et CHORINE pour *Argas persicus*, à l'acide phénique, ne nous ont pas donné de meilleurs résultats.

Expérience n° 4. — Le 10 novembre, les Souris n°s 24 à 28 sont positives (+) et la Souris n° 23 présente, au 6^e jour après

(1) Nous avons adopté, pour indiquer grossièrement l'abondance des Spirochètes dans les cultures ou dans le sang circulant des animaux, les signes suivants :

(+) : Rares parasites (un par cinq à dix champs).
(++) : Spirochètes.
(+++): Nombreux Spirochètes.
(++++): Très nombreux Spirochètes (aussi nombreux que les érythrocytes).

Planche VI

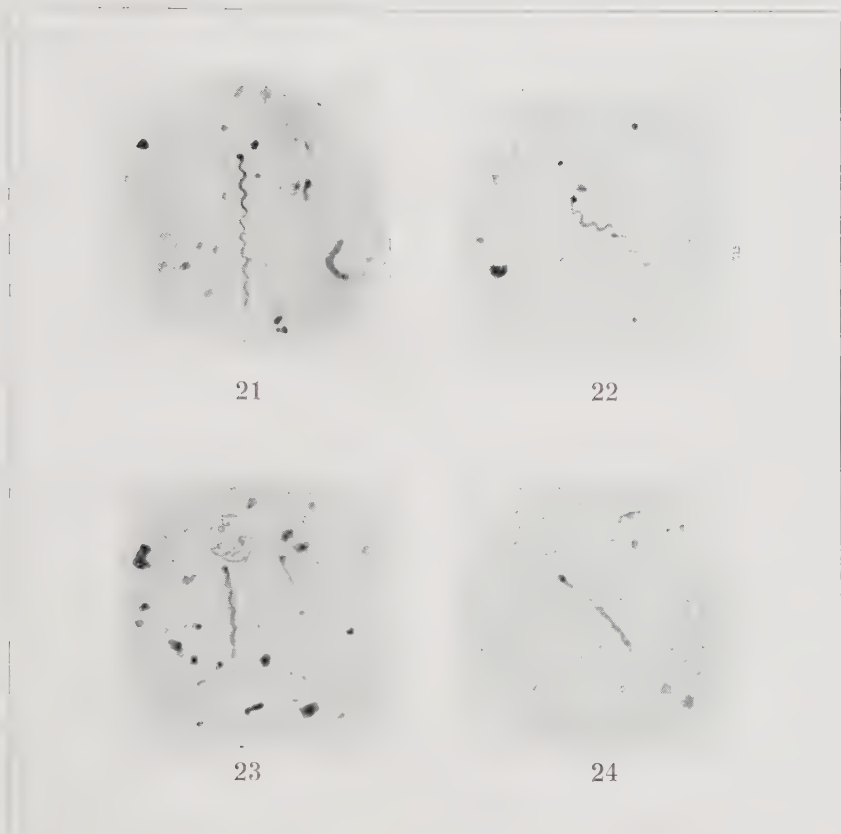


FIG. 21. — Spirochète isolé d'un abcès du Rat (R. Vincent). Granule spirochétogène libre. Remarquer la régularité des ondulations du filament, ainsi que son amincissement progressif. (Culture de 7 jours en bouillon-sérum-rein).

FIG. 22. — Granule spirochétogène libre. (Même matériel que le précédent).

FIG. 23. — *Spirochaeta duttoni*. Deux granules spirochétogènes libres. (Culture de 7 jours en milieu Marchoux-Chorine).

FIG. 24. — *Spirochaeta gallinarum*. Granule spirochétogène. (Culture de 8 jours en milieu Marchoux-Chorine).

(En partie emprunté au travail de P. SÉGUIN, loc. cit.).



l'inoculation, de très nombreux microorganismes dans le sang (++++). Cette dernière est sacrifiée et son sang est divisée en trois lots.

Le 1^{er} lot, d'un volume de 0 cc. 5, sert à infecter une Souris n° 29.

Le 2^e lot, d'un volume de 1 cc., est ensemencé dans 5 tubes de milieu de culture.

Avec le 3^e lot, constitué par quelques gouttes de sang mélangé à un volume égal de sérum physiologique, nous pratiquons des frottis qui sont fixés aux vapeurs d'acide osmique et colorés soit par le Giemsa soit par le bleu polychrome de Unna.

Le 14 novembre, les cultures sont parfaitement vivantes et il est facile d'observer de nombreuses divisions homotypiques.

La Souris n° 29 présente de très nombreux parasites (++++) dans le sang. Et les frottis pratiqués le 10 nous permettent de voir, après coloration au Giemsa, des parasites en voie de division homotypique avec des granulations particulières intracytoplasmiques.

Le 16 novembre, la Souris n° 29, six jours après avoir été inoculée, présente encore de nombreux Spirochètes (+++) mais en nombre moindre que lors de l'examen pratiqué le 14. C'est le début de la défervescence : nous allons étudier la morphologie des parasites à ce stade.

L'animal est sacrifié et le sang ensemencé dans des tubes de milieu de MARCHOUX et CHORINE fournit des cultures riches en parasites. Par contre, des essais de culture tentés avec des milieux de SÉGUIN (sérum-rein de Lapin) et d'UNGERMANN, nous ont prouvé, une fois de plus, l'avantage qu'il y avait à employer le milieu de MARCHOUX et CHORINE.

Le sang de la Souris est dilué, étalé sur lames et fixé aux vapeurs d'acide osmique en vue d'une imprégnation argentine. Nous voyons de nombreux Spirochètes en voie de fragmentation homotypique simple ou multiple, d'autres, plus rares en voie de division hétérotypique, des parasites munis d'un filament terminal ondulé (reliquat du périplasme étiré), quelques microspirochètes sur lesquels s'insère également un filament ondulé et des spirochètogènes (Pl. X, fig. 39).

Le sang semble donc être, au moment de la crise, un milieu particulièrement favorable à la multiplication des parasites puisque l'on y rencontre de nombreuses divisions homotypiques (Pl. X, fig. 37). Par contre, à la période de défervescence, la division hétérotypique remplace progressivement la division homotypique. Ce phénomène est particulièrement net lorsqu'on observe l'évolution des Spirochètes *in vitro*.

Les granules spirochètogènes sont abondants dans les cultures vers le 10^e jour en moyenne, et on peut en observer de caractéristiques dès le 7^e jour, comme le montre l'expérience n° 6.

Expérience n° 5 (Culture à partir de cerveau virulent de Souris infectée, mais ne présentant plus de parasites dans le sang). — Le 22 novembre, la Souris n° 28 inoculée depuis 15 jours ne présente plus de Spirochètes dans le sang circulant. L'animal est sacrifié et son cerveau prélevé stérilement est broyé dans un mortier. Le broyat est additionné de 10 cc. d'eau physiologique stérile.

Le mélange ainsi obtenu est ensemencé dans trois tubes de milieu de MARCHOUX et CHORINE. Des préparations faites à partir du liquide surnageant ne montrent pas la présence de Spirochètes.

Les cultures, examinées quotidiennement, demeurent négatives jusqu'au 7 décembre.

Des essais répétés à plusieurs reprises nous ont donné le même résultat. Il y a tout lieu de penser que les parasites présents chez l'Ornithodore et dans le cerveau de l'animal inoculé, se présentent sous une forme différente (indéterminée) de la forme hélicoïdale, incapable de se multiplier *in vitro*. A moins d'admettre que le parasite y est rare, mais sous sa forme typique. C'est un point qui reste à préciser et qui fera l'objet de recherches ultérieures.

Expérience n° 6. — Le 13 juillet 1939, une Souris n° 70, inoculée le 6 avec une émulsion cérébrale d'une Souris infectée depuis le 19 juin, est en pleine crise et son sang renferme des Spirochètes (++). L'animal est sacrifié et le sang recueilli par ponction intracardiaque est ensemencé dans quatre tubes de milieu.

Le 20 juillet, les cultures sont abondantes et les Spirochètes sont en voie de fragmentation selon le mode hétérotypique. Les parasites sont très mobiles. Sur les frottis on décèle de très nombreux granules spirochétogènes.

EXPÉRIENCE DE FILTRATION

Le 20 juillet 1939, nous mélangeons dans un ballon stérile deux tubes de cultures âgées de sept jours. Aux 10 cc. ainsi obtenus, nous additionnons 30 cc. d'eau physiologique stérile à 9 ‰, préalablement chauffée à l'étuve à 37° C.

Nous prélevons 30 cc. de cette solution au 1/4 que nous mettons à filtrer sur une bougie Chamberland L1 neuve (appareil de Martin). La filtration est faite à la température du laboratoire, sous une pression négative de 10 cm. de Hg et dure huit minutes. Avec le liquide filtré, nous pratiquons des examens au fond noir en vue de rechercher les Spirochètes. Des examens attentifs et répétés ne nous ont pas permis de constater la présence d'un organisme spirochétique.

Nous prélevons 5 cc. de liquide ainsi filtré et nous les centrifugeons rapidement à la vitesse de 4.000 t./m. pendant 10 minutes. Après centrifugation, nous rejetons le liquide

surnageant et nous diluons le culot qui reste au fond du tube avec deux gouttes d'eau distillée stérile.

Sur les frottis fixés aux vapeurs d'acide osmique et traités par la méthode de SÉGUIN, nous n'avons décelé aucun Spirochète. Nous avons observé des granules spirochétogènes présentant une partie granulaire intensément imprégnée par l'argent, munis d'un filament court. Nous avons également remarqué des filaments sans granules, ainsi que des granules seuls sans filament. Il est impossible de nous prononcer sur la signification de telles formations, puisque ce n'est que par la présence du filament ondulé que nous pouvons établir une différence entre le spirochétogène vrai des précipités dûs à l'imprégnation argentique.

Cette expérience confirme entièrement celles faites en 1930 par SÉGUIN : les spirochétogènes sont capables de traverser les filtres Chamberland.

D'autre part, une Souris témoin n° 71 B, inoculée avec 1 cc. de culture diluée, mais non filtrée, a contracté la maladie quatre jours plus tard.

De cette série d'expériences nous pouvons retenir les points suivants :

1° *Sp. duttoni* est incapable de traverser les filtres Chamberland L1;

2° Les spirochétogènes de *Sp. duttoni* traversent ces mêmes filtres et on peut les déceler par la technique de SÉGUIN;

3° Les expériences de filtration ne réussissent qu'avec des cultures âgées qui renferment des spirochétogènes.

Puisque le spirochétogène des Spirochètes sanguicoles traverse les filtres, nous nous sommes demandé si ce filtrat injecté à un animal neuf était capable ou non de provoquer la maladie. Pour ce faire, nous nous sommes adressé à un matériel plus favorable, c'est-à-dire au Cobaye infecté par *Sp. hispanica*.

En effet, la Souris présente le gros inconvénient d'être peu résistante aux infections secondaires dont elle meurt au cours des expériences. De plus, la ponction intracardiaque est plus facile à pratiquer chez le Cobaye.

Les résultats obtenus avec *Sp. hispanica* peuvent être rapprochés de ceux observés chez *Sp. duttoni*, puisque ces deux organismes sont extrêmement voisins.

CHAPITRE III

Spirochaeta hispanica Sadi de Buen, 1926.

Synonyme : *Treponema hispanicum*.

Spirochaeta hispanica est l'agent de la fièvre récurrente espagnole ou hispano-africaine. C'est par l'intermédiaire d'*Ornithodoros erraticus* (Lucas, 1849) (= *O. Maroccanus* Velu, 1919), que la maladie se transmet aux animaux et en particulier à l'Homme (1).

L'acarien subit une évolution semblable à celle décrite pour *O. moubata* depuis l'œuf jusqu'à l'état adulte. Le processus a été très bien décrit par BRUMPT à qui nous empruntons ce passage (1936, II, 1193) : « la femelle gorgée de sang dépose quelques jours plus tard plus de 100 œufs. Les larves hexapodes se gorgent de sang en quelques minutes sur des hôtes divers, muent quelques jours plus tard en donnant des nymphes qui se gorgent rapidement et qui, après six mues, donnent des animaux adultes. Le nombre des mues peut être réduit à quatre dans certaines conditions (COLAS-BELCOUR, 1935) ».

Sp. hispanica a une longueur moyenne de 8 à 15 μ sur 0,2 à 0,4 μ de large. Il possède 4 à 6 tours de spire. Ses mouvements sont divers. Voici, en partie, la description qu'en donne LAMACHE (*loc. cit.*) :

1° Des mouvements hélicoïdaux dans le sens antérieur ou postérieur;

2° Des mouvements en flexions brusques formant un anneau (cet anneau est capable de tourner dans le sens dextre ou senestre):

3° Des ondulations sinusoïdales sur place, le parasite restant fixé par une extrémité sur une hématie.

Dans le sang du Cobaye (animal de choix pour l'étude de ce parasite), *Sp. hispanica* présente d'une façon constante le mouvement annulaire. Cet anneau peut s'ouvrir brusquement et le parasite reprend son aspect typique.

La forme annulaire est extrêmement rare chez *Sp. duttoni* et, à maintes reprises, nous avons pu distinguer *Sp. duttoni* de *Sp. hispanica* par l'examen de sang d'animaux infectés respectivement par l'un ou l'autre de ces deux Spirochètes.

(1) LAVIER a dressé, dans sa thèse, une longue liste des Invertébrés hémaphages, susceptibles de transmettre une spirochétose à l'Homme.

Cependant, dans les cultures, les deux parasites sont morphologiquement identiques.

Comme tous les Spirochètes sanguicoles, *Sp. hispanica* présente de grandes variations dans la taille, l'épaisseur, l'intervalle et le nombre de spires, suivant le mode de fixation, le colorant employé, etc...

Ce parasite a été cultivé pour la première fois par AZNAR (1926), puis par NICOLLE et ANDERSON (1927), par LAPIDARI et SPARROW (1928), et enfin par TALICE et SURRACO (1929) dans les milieux d'UNGERMANN, d'ARISTOWSKY et HOELTZER (cité par TALICE et SURRACO, 1929).

EXPÉRIENCES DE CULTURE

Le milieu qui nous a donné les meilleurs résultats pour le développement de *Sp. hispanica*, a été, dans nos expériences, celui qu'indiquent MARCHOUX et CHORINE pour *Sp. gallinarum*. Mais nous soulèverons les mêmes objections qu'à propos de la culture de *Sp. duttoni* : le milieu de MARCHOUX et CHORINE n'est pas le milieu de choix pour la culture et la conservation de *Sp. hispanica*. En effet, les formes de dégénérescence apparaissent rapidement dès que le pH devient supérieur à 7,7 ou inférieur à 7,5. Pour éviter cet inconvénient il faut pratiquer de fréquents repiquages.

Expérience n° 1. — Le 12 juin 1939, nous mettons à gorger sur un Cobaye mâle n° 81 A, un lot de 24 exemplaires d'*Ornithodoros erraticus* que nous avons recueillis au mois de mai de la même année dans la grotte de Sidi Abderhamane, près de Casablanca. C'est sur les indications du D^r BLANC, qu'il nous a été possible de récolter ce matériel au Maroc. Nous l'en remercions vivement.

Le 21 juin, le Cobaye présente de nombreux Spirochètes dans le sang (+++). Des frottis faits avec ce sang et colorés par le Giemsa nous ont permis d'observer des parasites présentant les caractères indiqués plus haut. L'animal est sacrifié et son sang, prélevé par ponction intracardiaque (1), est ensemencé dans quatre tubes de culture. Deux de ces tubes sont maintenus à la température du laboratoire et les deux autres sont placés à l'étuve à 37° C. Dans chaque tube nous versons 1 cc. d'huile de vaseline stérile.

Dans la première série de tubes nous avons noté dès le 3^e jour, une rapide dégénérescence des parasites, tandis que dans les tubes placés à l'étuve, les Spirochètes étaient parfaitement mobiles, en voie de division transversale homotypique.

Sur des frottis préparés à partir de cultures de 3 jours, fixés et colorés par la technique de SÉGUIN, nous avons pu

(1) La technique employée est identique à celle indiquée pour *Sp. duttoni*. On peut, avant d'ouvrir la paroi thoracique du Cobaye, faire une anesthésie locale avec 2 cc. de Novocaïne à 2 %.

observer de très nombreux Spirochètes ainsi que quelques spirochètogènes.

Le 29 juin, le nombre des spirochètogènes était considérable. Leur morphologie rappelle celle décrite pour *Sp. duttoni*, aussi nous n'y reviendrons pas (Pl. VII, fig. 25). En même temps que les spirochètogènes faisaient leur apparition, la division transversale selon le mode hétérotypique remplaçait progressivement la division transversale homotypique.

Expérience n° 2. — Un Cobaye femelle n° 81 B, de 410 gr., inoculé le 24 juin avec 1 cc. de culture de 3 jours, présente de nombreux Spirochètes dans le sang circulant (+++) le 29 juin. Ce même jour, l'animal met bas deux rejetons qui présentent également de nombreux parasites dans le sang (+++). Nous n'avons pas pu déceler de parasites sur les frottis à partir du lait de la mère.

Les tentatives de cultures avec quelques gouttes de lait maternel prélevé aseptiquement, ont été vouées à l'échec.

Expérience n° 3. — Le 3 juillet, un des tubes de milieuensemencé le 21 juin présente au fond noir, des Spirochètes en voie de division hétérotypique, ainsi que quelques rares parasites en voie de division homotypique. Deux cc. de cette culture de 12 jours, injectés sous la peau d'un Cobaye mâle n° 81 C, de 320 gr., déterminent la maladie en trois jours.

Expérience n° 4. — Le 2 janvier 1940, le cerveau d'un Cobaye mâle, n° 98 A, de 330 gr., piqué le 12 juin 1939 par un lot de 24 exemplaires d'*O. erraticus*, est broyé, dilué dans de l'eau physiologique stérile. La solution opalescente estensemencée dans 4 tubes de culture à raison de V à VII gouttes par tube. Les cultures sont demeurées négatives malgré les examens répétés.

Nous n'exposerons pas en détail, comme il a été fait pour *Sp. duttoni*, les expériences de culture de *Sp. hispanica*. Les résultats que nous avons observés depuis 1939 ont toujours été constants avec des souches d'*O. erraticus* différentes (souche Casablanca; souches n°s 463 XX et 109 XXV du P^r BRUMPT). Retenons seulement les points suivants :

1° Le temps d'incubation de la maladie, chez le Cobaye inoculé avec des cultures de *Sp. hispanica* varie suivant la quantité de virus injecté;

2° Les cultures jeunes, de même que les cultures âgées (cf. expériences de filtration : inoculation aux animaux-témoins) sont susceptibles de provoquer la maladie chez l'animal;

3° Les cultures repiquées tous les quatre jours ont pu être conservées pendant dix générations sans que l'on note une diminution du pouvoir pathogène et virulent;

4° Dès que les Spirochètes se sont adaptés au milieu, ils se multiplient par division transversale homotypique;

5° Les spirochétogènes (Pl. VII, fig. 25) apparaissent au moment de la division hétérotypique des formes hélicoïdales; mais vers le 20° jour (délai *maximum*) l'agglutination, puis la spirochétolyse rendent les repiquages et les inoculations impossibles;

6° Une variation brusque du pH rend le milieu impropre au développement de *Sp. hispanica*;

7° Le moment favorable pour tenter la culture de *Sp. hispanica*, à partir de sang de Cobaye parasité, est le 2° ou 3° jour après l'apparition des premiers Spirochètes. En d'autres termes, quand le nombre des microorganismes est *maximum* et avant l'apparition d'anticorps dans le sang.

EXPÉRIENCES DE FILTRATION

La filtration bactériologique ne dépend pas seulement, on le sait, de la porosité moyenne des bougies, mais aussi de la composition du milieu à filtrer, de son pH, de ses qualités physico-chimiques en un mot. Aussi ne tiendrons-nous pas compte des expériences négatives.

Deux bougies Chamberland portant le même numéro peuvent accuser des variations de porosité assez sensibles; c'est pourquoi, après avoir déterminé approximativement le calibre nécessaire au passage des spirochétogènes, nous avons répété les expériences de filtration avec un même numéro de bougie.

Enfin, la quantité de filtrat à injecter ne doit pas être trop faible et les expériences de filtration ne réussissent qu'avec des cultures âgées renfermant de nombreux spirochétogènes.

EXPÉRIENCES NÉGATIVES

Expérience n° 1. — Le 12 juillet 1939, une culture âgée de 8 jours examinée au fond noir, montre de nombreux Spirochètes en voie de division homotypique et hétérotypique.

On dilue 3 cc. de cette culture dans 9 cc. d'eau physiologique à 9 ‰ stérile et préalablement chauffée à 37° C. (dilution à 1 p. 4). La dilution est mise à filtrer sur une bougie Chamberland neuve L3 (appareil de Martin). Sur les frottis pratiqués à partir de ce filtrat, nous ne décelons aucun spirochétogène ni aucun élément hélicoïdal. Un Cobaye, N° 81 D, de 320 gr., reçoit par voie sous-cutanée, 2 cc. de ce même filtrat : l'animal reste indemne.

Ce résultat négatif montre que la porosité de la bougie Chamberland L3 est trop faible et que rien ne passe à travers ses pores.

Expérience n° 2. — Le 25 janvier 1940, nous diluons 1 cc. de culture de *Sp. hispanica* âgée de six jours, dans 4 cc. d'eau physiologique stérile (dilution à 1 p. 5). La culture présente de nombreux parasites en voie de division homotypique. La filtration a lieu sur une bougie Chamberland L1 *bis* neuve préalablement humectée avec 1 cc. d'eau physiologique stérile,

et à la température du laboratoire sous une pression négative de 22 cm. de Hg. L'expérience dure 10 minutes.

On centrifuge 1 cc. de filtrat, à 4.000 t./m. pendant 10 minutes. Le liquide surnageant est rejeté et le culot de centrifugation est repris dans 11 gouttes d'eau distillée stérile. Les frottis faits à partir de ce filtrat n'ont montré la présence d'aucun élément hélicoïdal, ni d'aucun spirochétogène. Un Cobaye, femelle, de 220 gr. n° 102, inoculé avec 2,5 cc. du filtrat n'a pas contracté la maladie.

L'inoculation du liquide de filtration ne détermine pas de phénomène d'immunité chez le Cobaye puisque tous les animaux demeurés négatifs après un laps de temps variant de 20 à 30 jours, et réinoculés avec des cultures non filtrées ont contracté la maladie après un temps normal d'incubation.

Expérience n° 3. — Le 26 février 1940, nous diluons 5 cc. d'une culture de 12 jours de *Sp. hispanica* dans 25 cc. d'eau physiologique stérile. Les préparations faites avec ce matériel montrent des Spirochètes en voie de division hétérotypique, ainsi que des spirochétogènes.

La dilution au 1/6 que nous obtenons est mise à filtrer sur bougie Chamberland neuve L2, à la température du laboratoire et sous une pression négative de 20 cm. de Hg. L'expérience dure 7 minutes.

Un Cobaye, femelle, de 460 gr. n° 106, est inoculé avec 2 cc. du mélange avant filtration. L'animal contracte la maladie et présente des Spirochètes dans son sang le 29 février, c'est-à-dire trois jours plus tard. Le maximum des parasites (+++++) s'observe le 2 mars, après quoi leur nombre va en diminuant.

Un Cobaye, femelle, de 520 gr. n° 107, est inoculé avec 10 cc. de filtrat et un autre Cobaye, femelle, de 500 gr. n° 108, reçoit 12 cc. de ce même filtrat. Les préparations obtenues avec 2 cc. de filtrat centrifugé et traitées par la méthode de SÉGUIN, sont demeurées indemnes de spirochétogènes et de toute forme hélicoïdale. Enfin, les Cobayes n° 107 et n° 108 n'ont pas contracté la maladie.

Nous pouvons donc conclure que les spirochétogènes ne traversent pas les pores des bougies Chamberland L2.

Expérience n° 4. — Le même résultat fut obtenu avec une bougie Chamberland L1 bis, le 4 mars 1940. Une autre expérience faite avec une culture jeune de *Sp. hispanica* a été négative également, ce qui montre que l'âge de la culture et la porosité de la bougie sont deux facteurs essentiels pour la réussite des essais de filtration.

EXPÉRIENCES POSITIVES

Expérience n° 5. — Les expériences de filtration de *Sp. hispanica* sont positives lorsqu'on emploie des bougies Chamber-

land L1 ou L1 bis. Il arrive cependant que certaines bougies laissent passer des Spirochètes : il est alors aisé, si on ne les observe pas au fond noir, de les rechercher sur les frottis obtenus avec le liquide de filtration centrifugé et dilué.

Le 29 janvier 1940, un tube de culture de *Sp. hispanica* âgée de 10 jours montre de nombreux Spirochètes en division hétérotypique (méthode des frottis traités par l'argent après mordantage). Nous prélevons 2 cc. de ce tube que nous diluons dans 8 cc. d'eau physiologique stérile. Nous obtenons ainsi 10 cc. d'une dilution au 1/5 que nous mettons à filtrer sur bougie Chamberland L1 neuve, à la température du laboratoire, avec une pression négative de 22 cm. de Hg. La filtration dure 7 minutes.

Des préparations faites avec 2 cc. de filtrat centrifugé nous montrent des granules spirochétogènes (Pl. VII, fig. 27) et une absence de Spirochètes. Un Cobaye, mâle, de 350 gr. n° 103, est inoculé avec 8 cc. de filtrat. L'animal demeure négatif, malgré les examens quotidiens, jusqu'au 10 février 1940. Ce n'est qu'à partir du 12^e jour après l'inoculation que nous avons pu observer quelques Spirochètes dans le sang du Cobaye (+). Le nombre des parasites a été en croissant jusqu'au 12 février, puis a régressé à partir du 13 février.

Cette expérience montre bien le rôle du granule spirochétogène : l'organite est capable non seulement de traverser les filtres, mais aussi de provoquer la maladie chez le Cobaye. Il faut remarquer également, dans ce cas, que le temps d'incubation a été de 12 jours alors qu'il n'est que de 4 à 6 jours lorsqu'on infecte un Cobaye avec une culture non filtrée.

Expérience n° 6. — Le 12 avril 1940, quatre tubes d'une culture de *Sp. hispanica* de 17 jours sont mélangés dans un ballon, ce qui fournit un volume de 10 cc. Les parasites sont en voie de fragmentation homotypique, d'autres, plus nombreux, sont en division hétérotypique.

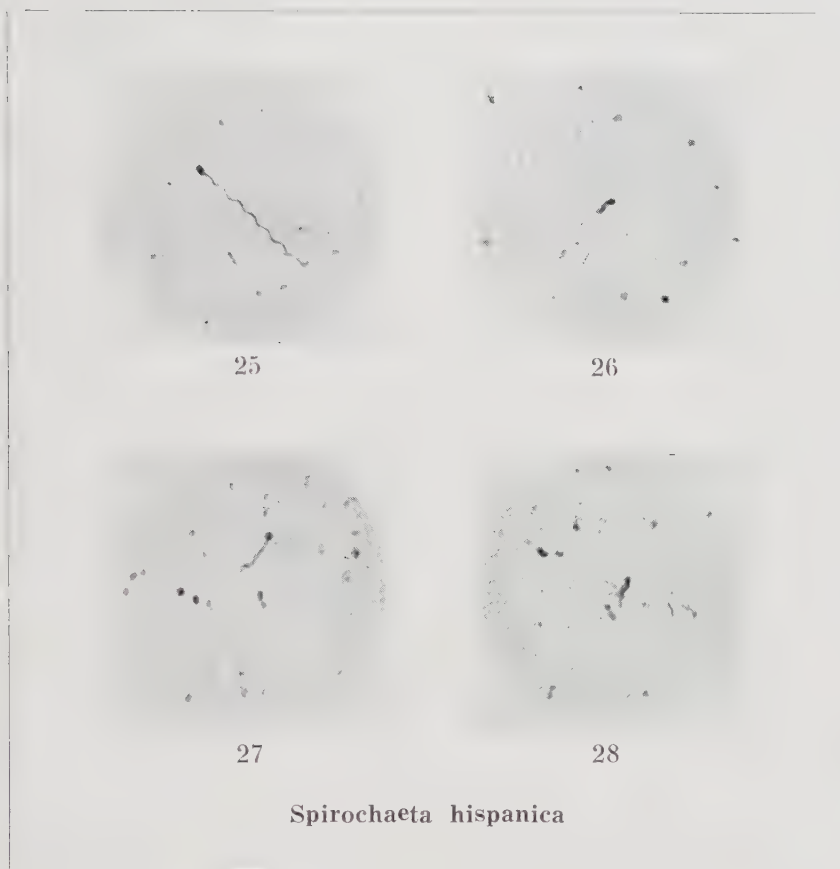
Nous additionnons 30 cc. d'eau physiologique stérile aux 10 cc. résultant du mélange des tubes de culture, ce qui nous fournit une dilution au 1/4.

Nous filtrons sur bougie Chamberland L1 bis neuve, 30 cc. du volume final. L'expérience a lieu à la température du laboratoire, sous une pression négative de 20 cm. de Hg et dure 5 minutes.

Nous injectons 10 cc. de ce filtrat, par voie sous-cutanée, à un Cobaye, mâle, de 440 gr. n° 116. Le contrôle de l'expérience se fait par l'étude des préparations obtenues avec 1 cc. de filtrat centrifugé et dilué : absence de Spirochètes typiques, mais présence de spirochétogènes (Pl. VII, fig. 26) et de quelques filaments courts sans grains argyrophiles.

Le Cobaye contracte le spirochétoze et présente le 25 avril, c'est-à-dire 13 jours après l'inoculation du filtrat, quelques parasites typiques (+). Malheureusement, il ne nous a pas

Planche VII



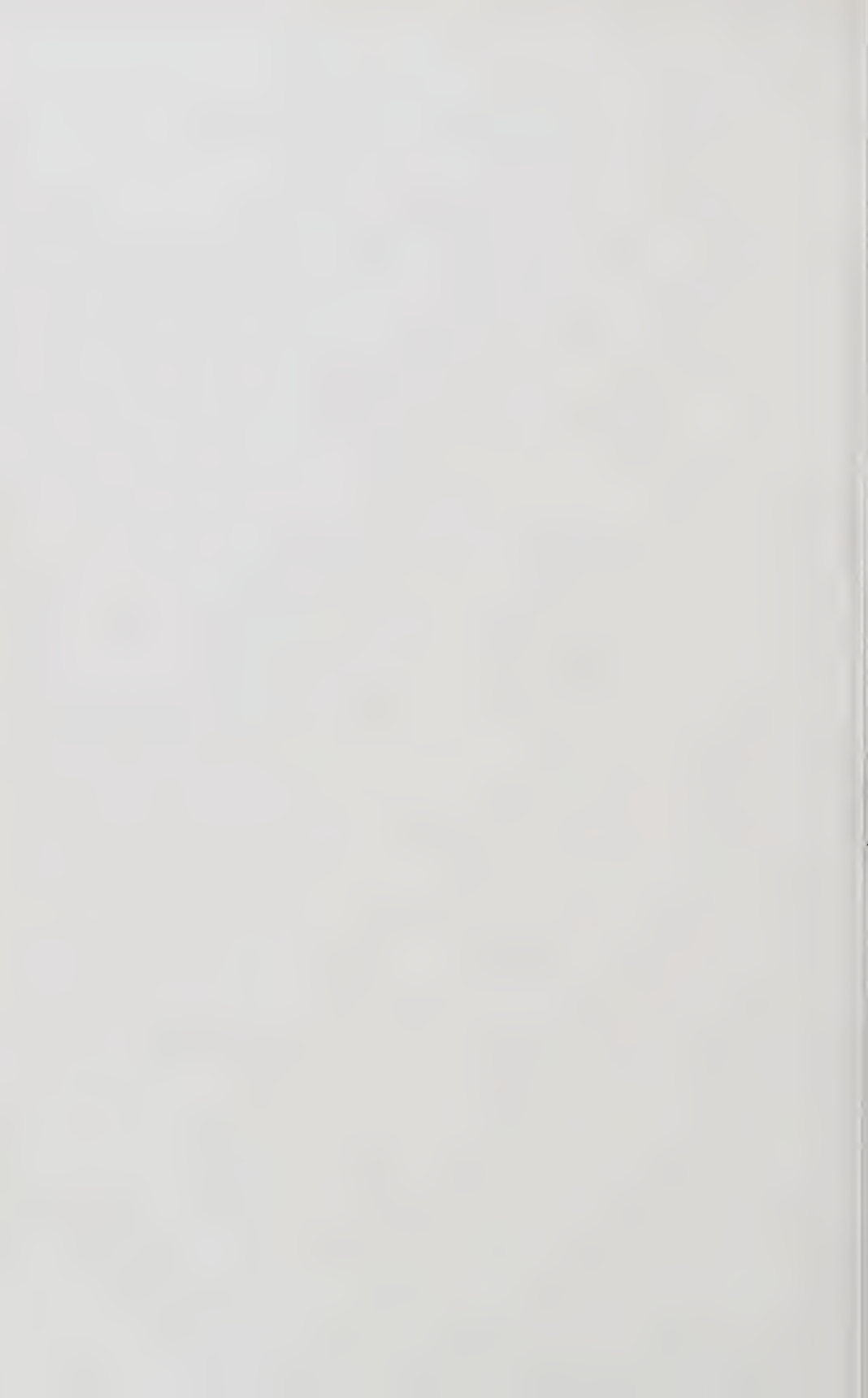
Spirochaeta hispanica

FIG. 25. — Granule spirochétogène caractéristique. (Culture de 6 jours en milieu de Marchoux et Chorine).

FIG. 26. — Granule spirochétogène à filament extrêmement court. (Frottis de filtrat infectant).

FIG. 27. — Granule spirochétogène possédant un filament de taille moyenne, ayant traversé les pores d'une bougie Chamberland L1. (Frottis de filtrat).

FIG. 28. — Granule spirochétogène présentant un filament court, épaissi et peu ondulé. (Frottis de filtrat infectant).



été donné de suivre la destinée de la maladie, car l'animal est mort le soir même d'une maladie intercurrente.

Expérience n° 7. — Le 23 mai 1940, trois tubes d'une culture de *Sp. hispanica* (milieu MARCHOUX et CHORINE au sérum de Bœuf) âgée de 9 jours présentent des Spirochètes agglutinés, d'autres mobiles en voie de division hétérotypique. Nous mélangeons les trois tubes et nous obtenons ainsi un volume total de 10 cc. En les additionnant de 40 cc. d'eau physiologique, nous obtenons une dilution au 1/5.

Nous mettons à filtrer 30 cc. du mélange définitif, sur une bougie Chamberland L1 neuve à la température du laboratoire et sous une pression négative de 20 cm. de Hg. Durée de l'expérience : 15 minutes.

Des préparations faites avec 2 cc. du filtrat centrifugé, et examinées six jours plus tard, nous ont révélé la présence de très rares Spirochètes typiques et de quelques spirochètogènes.

Nous inoculons 20 cc. de ce filtrat à un Cobaye, mâle, de 610 gr. n° 126; l'animal contracte la maladie quatre jours plus tard. De plus un Cobaye-témoin, mâle, de 350 gr. n° 127 a été infecté dans le même laps de temps, après inoculation de 5 cc. du mélange avant filtration.

Ici, les pores de la bougie (ou une fêlure accidentelle) ont laissé passer les Spirochètes, ce qui a abrégé considérablement le temps d'incubation de la maladie expérimentale. Grâce aux frottis préparés avec le filtrat centrifugé et dilué, puis imprégné, il nous a été possible de déceler des Spirochètes typiques, alors que l'examen au fond noir de ce même liquide s'était révélé négatif.

Expérience n° 8. — Le 12 novembre 1940, nous mélangeons dans un ballon stérile, trois tubes de culture âgée de 15 jours de *Sp. hispanica*. Le volume obtenu est de 17 cc. Nous additionnons 45 cc. d'eau physiologique stérile à 15 cc. de ce mélange. Le tout est mis à filtrer sur bougie Chamberland L1 bis neuve, à la température du laboratoire. Durée de la filtration : 10 minutes.

Des frottis obtenus avec 1 cc. de filtrat centrifugé et dilué, révèlent à l'examen microscopique quelques spirochètogènes munis de très courts filaments (Pl. VII, fig. 28), contrastant avec une absence totale de formes hélicoidales typiques.

Un Cobaye, femelle, de 500 gr. n° 143, inoculé avec 2 cc. de culture diluée mais non filtrée contracte la maladie le 18 et présente de très nombreux parasites le 20 (++++).

Un autre Cobaye, mâle, de 525 gr. n° 144, est inoculé avec 15 cc. de filtrat. Le 25 novembre, donc au 13^e jour après l'inoculation du liquide présumé infectant, l'animal présente de rares parasites dans le sang (+). Malheureusement, le Cobaye succombe le lendemain à une pneumonie et il nous a été impossible, de ce fait, de suivre l'évolution de la maladie.

Expérience n° 9. — Le 25 février 1941, des cultures de 11 jours de *Sp. hispanica* présentent des parasites en voie de segmentation hétérotypique, d'autres peu mobiles. Nous mélangeons 5 cc. de cette culture à 20 cc. d'eau physiologique stérile. La dilution au 1/5 est mise à filtrer sur bougie Chamberland neuve L1 bis sous une pression négative de 10 cm. de Hg, à la température du laboratoire. La filtration dure 7 minutes.

Nous inoculons 2,5 cc. de mélange avant filtration à un Cobaye, femelle, de 250 gr. n° 163, qui contracte la maladie et présente de rares parasites le 5 mars (+).

Un second Cobaye, femelle, de 220 gr. n° 162, reçoit, par voie sous-cutanée, 15 cc. de liquide filtré. L'animal demeure négatif jusqu'au 7 mars. Mais dès le 8 mars (11 jours après avoir été inoculé), son sang présente quelques Spirochètes (+); leur nombre augmente le 10 (++) et diminue le 12 (+).

Nous résumerons dans le tableau ci-contre le résultat de nos expériences de filtration.

Parmi celles-ci, les quatre premières sont négatives; les suivantes sont positives : l'infection a été obtenue par inoculation de spirochétogènes, ce qui entraîne un temps d'incubation assez long. L'expérience n° 7 montre que des formes hélicoïdales ont réussi à franchir les pores de la bougie ou qu'un accident s'est produit lors de la filtration.

TABLEAU III

Exp. n°	Bougie	Age des cultures	Eléments observés	Résultats de l'inoculation	Temps d'incubat.
1...	L3	8 jours	Néant	81 D : négatif	
2...	L1 bis	6 jours	Néant	102 : négatif	
3...	L2	12 jours	Néant	107 : négatif 108 : négatif T. 106 : positif	3 jours
4...	L1 bis	12 jours	Néant	négatif	
5...	L1	10 jours	spirochétogènes	103 : positif	12 jours
6...	L1 bis	17 jours	spirochétogènes	116 : positif	13 jours
7...	L1	9 jours	Spirochètes spirochétogènes	126 : positif T. 127 : positif	4 jours 4 jours
8...	L1 bis	15 jours	spirochétogènes	144 : positif T. 143 : positif	13 jours 6 jours
9...	L1 bis	11 jours	spirochétogènes	162 : positif T. 163 : positif	11 jours 8 jours

Les chiffres de la colonne 5 indiquent le n° des Cobayes. Le signe T se rapporte au Cobaye témoin, inoculé avec la culture diluée, mais non filtrée.

En définitive, les expériences de filtration nous ont fourni les résultats suivants :

1° Les expériences n'ont pas toutes été positives. Pour la clarté de l'exposé nous n'avons pas cru utile de rapporter toutes celles qui sont demeurées négatives.

2° Tout essai de filtration tenté avec des cultures jeunes, ne renfermant donc pas de spirochétogènes, est voué à l'échec (exp. n° 2).

3° Les formes hélicoïdales de *Sp. hispanica* sont arrêtées par les bougies Chamberland L3, L2 (1). Il est rare qu'elles passent à travers les bougies L1 *bis* ou L1.

4° Quand les Spirochètes filtrent à travers les bougies L1 *bis* ou L1 (exp. n° 7 pour L1 *bis*), le temps d'incubation de la maladie expérimentale est court et on retrouve des parasites à l'examen des frottis obtenus à partir du liquide filtré.

5° Chez les Cobayes inoculés avec le filtrat ne renfermant pas de formes hélicoïdales, le temps d'incubation de la maladie est de 11 à 13 jours, dans nos expériences.

6° Le filtrat, infectant, ne renferme que des spirochétogènes. Tout porte à croire que l'infection est provoquée par cette forme particulière.

7° Les spirochétogènes peuvent être mis en évidence sur les préparations faites à partir du liquide de filtration, après centrifugation et imprégnation selon la technique de SÉGUIN.

On comprend maintenant, à la lumière de nos expériences, les résultats d'apparence contradictoire obtenus par MARCHOUX et CHORINE chez *Sp. gallinarum*.

Ces auteurs, en ensemençant du sang de Poule ou d'*Argas* ne renfermant que le « virus infravisible », dans les milieux de culture appropriés ont constaté que les filtrats (Chamberland L2, Berkefeld N) de ces cultures (?) étaient pathogènes pour la Poule.

Ce premier résultat s'explique par la présence démontrée de granules spirochétogènes ou de microspirochètes dans le sang ne renfermant pas de formes hélicoïdales et prélevé pendant la phase de latence. Il rend vraisemblable la présence de ces organites chez *Argas persicus*.

D'autre part, MARCHOUX et CHORINE ont constaté que les cultures jeunes contenant des Spirochètes typiques et provenant de l'ensemencement de la forme typique ou de la

(1) Dans les expériences de filtration faites par SÉGUIN (*Sp. calligyra*), les spirochétogènes ont traversé les bougies L2 et même L3. Ces résultats différents des nôtres s'expliquent aisément par le fait que les spirochétogènes de *Sp. calligyra* ont des dimensions inférieures à celles des Spirochètes sanguicoles. Il y aura donc lieu dans toute expérience de contrôle de tenir compte de la taille des organites qui correspondent aux Spirochètes dont ils sont issus, lorsqu'il faudra choisir les bougies nécessaires à la filtration.

forme dite « infravisible » étaient dépourvues de pouvoir pathogène lorsqu'elles étaient filtrées à travers des bougies Chamberland L2 ou Berkefeld N.

Ce résultat n'est pas pour surprendre puisque dans de telles cultures les granules spirochétogènes sont absents ou très rares et que dans ces conditions le filtrat arrête tous les éléments pathogènes de la culture.

Si MARCHOUX et CHORINE avaient expérimenté comme nous avec des cultures âgées riches en microspirochètes et en spirochétogènes, ils auraient vraisemblablement obtenu eux aussi des résultats positifs.

Cet ensemble de faits expérimentaux, contrôlés par l'examen attentif des préparations traitées par le nitrate d'argent après mordantage, nous fait penser que la forme dite « infravisible » est constituée, dans le cas des expériences de filtration, par le spirochétogène, visible et pathogène. Cela explique l'infection par une forme « invisible » comme l'avait supposé BLANC en 1911.

Mais nous avons voulu préciser le rôle du spirochétogène *in vivo* chez le Cobaye infecté par *Sp. hispanica*, c'est pourquoi nous avons été amené à étudier le problème de la *phase de latence* et celui de la *phase de défervescence*.

Etude du spirochétogène « in vivo »

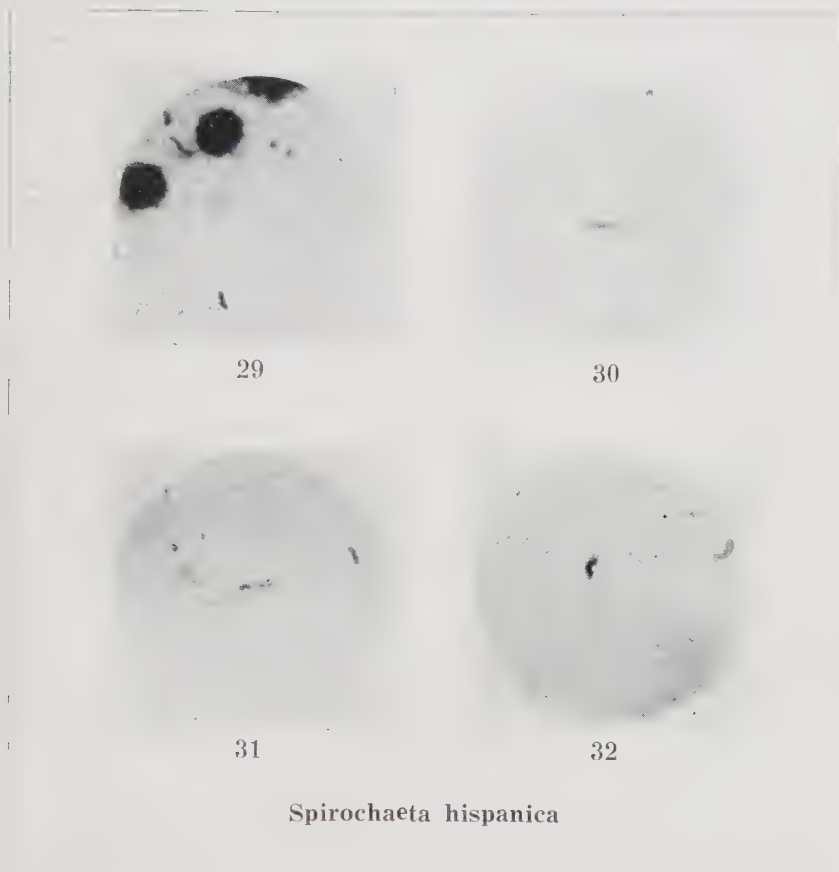
Lorsqu'on met à piquer un lot d'*Ornithodores* (*O. erraticus*, en la circonstance) sur le Cobaye, les formes hélicoïdales n'apparaissent, en moyenne, que vers le 6^e, le 7^e et même le 8^e jour. Le temps d'incubation est variable suivant le nombre d'Acariens mis à gorger, donc suivant la quantité de virus infectant. Cette remarque a déjà été faite par BRUMPT (1936, II, p. 127) à propos d'*O. erraticus*.

Dès 1906, BREINL et KINGHORN avaient noté que le sang de malades atteints de Tick fever et ne renfermant pas de Spirochètes, était infectant pendant la période apyrétique de la maladie. Par la suite, cette observation a été confirmée par de nombreux auteurs pour divers Spirochètes récurrents.

Par ailleurs, MARCHOUX et CHORINE avaient remarqué que le sang de la Poule piquée par *Argas persicus*, était infectant pour un animal neuf, de la 12^e heure au 5^e jour avant l'apparition des formes hélicoïdales dans le torrent circulatoire. Ces auteurs avaient attribué le rôle pathogène du liquide sanguin à une forme « infravisible ».

Nous avons recherché quelle était cette forme capable de transmettre l'infection en nous adressant au Cobaye piqué par *Ornithodorus erraticus*. Nous avons examiné quotidiennement le sang recueilli par simple ponction intra-cardiaque chez des animaux pendant la période qui précède l'apparition des formes typiques. Ce sang a été divisé en trois lots : le premier a étéensemencé dans des tubes de culture propres

Planche VIII



Spirochaeta hispanica

FIG. 29. — Granule spirochétogène muni d'un fin filament peu ondulé. Au-dessus deux érythrocytes. (Frottis de sang de Cobaye pendant la *phase de latence*).

FIG. 30. — Granule spirochétogène présentant un filament court. (Même matériel).

FIG. 31. — Microspirochète à un tour de spire avec son filament terminal. (Même matériel).

FIG. 32. — Microspirochète à un tour et demi. (Même matériel).

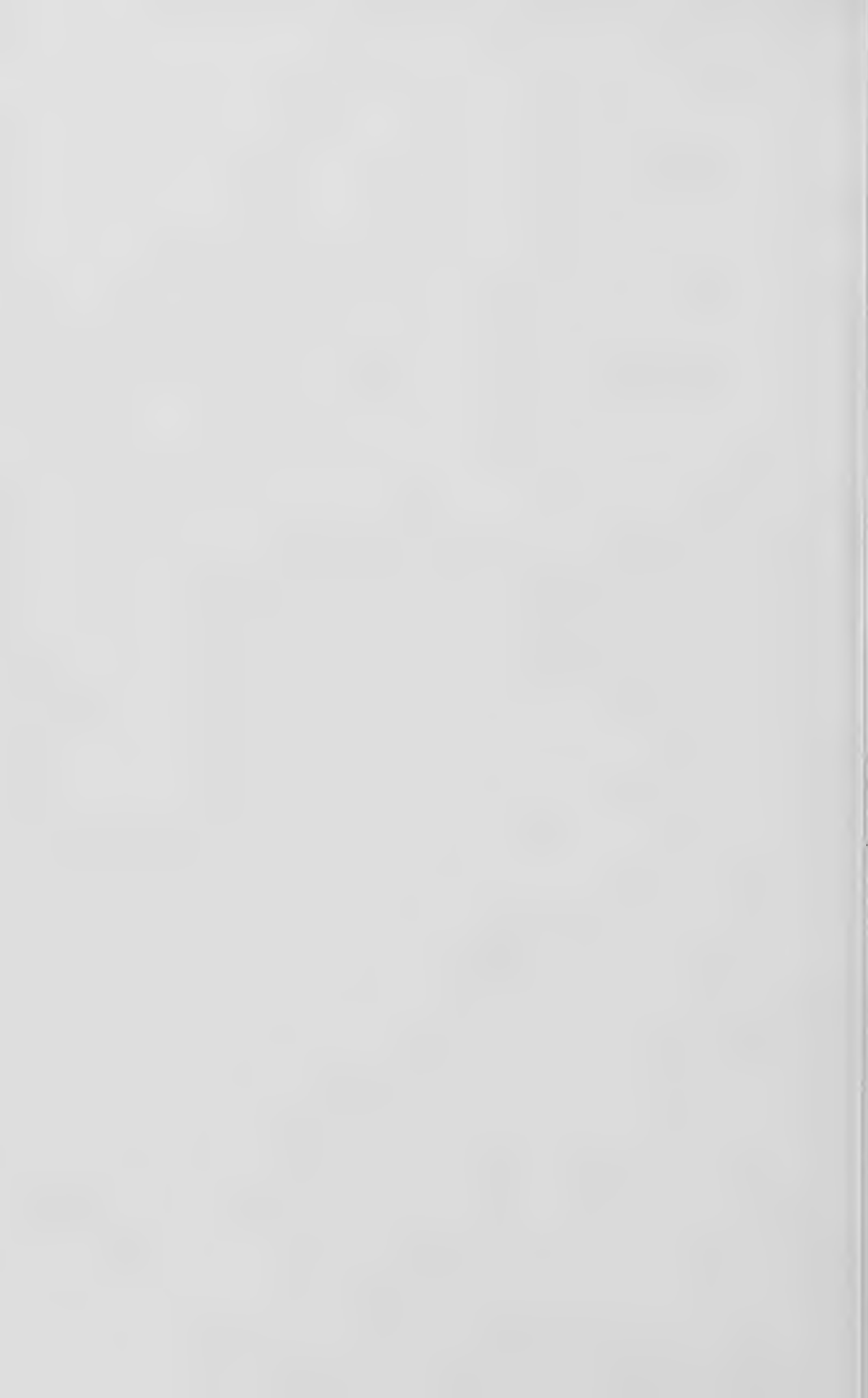
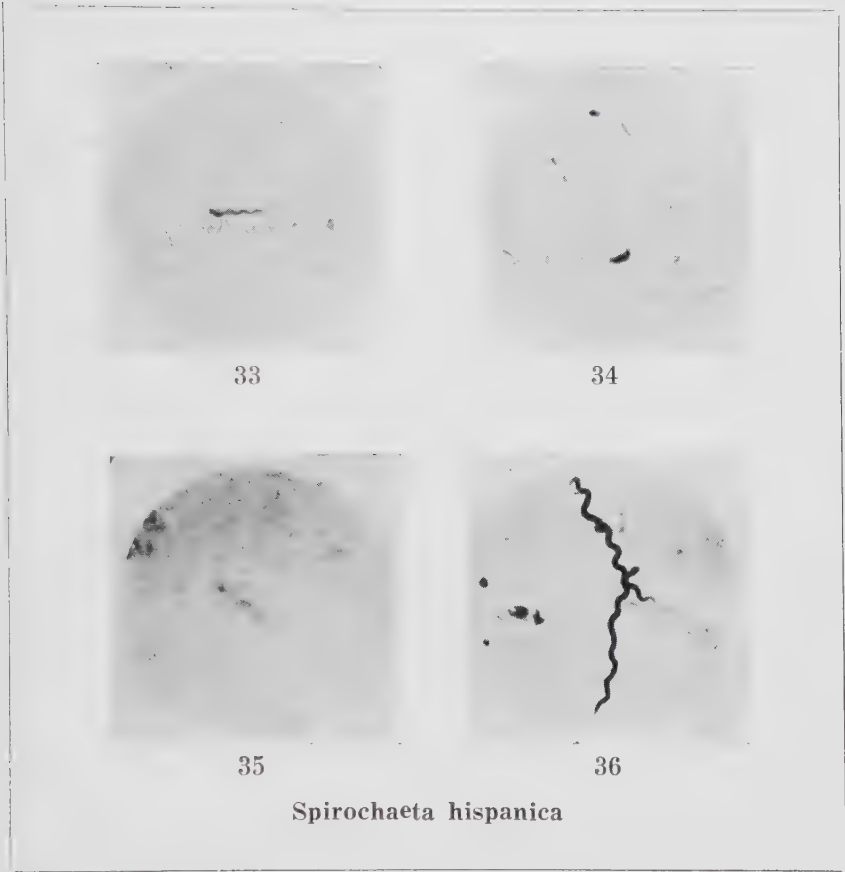


Planche IX



Spirochaeta hispanica

- FIG. 33. — Microspirochète avec son filament terminal épaissi, mais bien ondulé. (Frottis de sang de Cobaye pendant la *phase de latence*).
- FIG. 34. — Microspirochète très argyrophile. (Même matériel).
- FIG. 35. — Autre granule spirochétogène. Remarquer la similitude entre cette image et la fig. 36 : même colorabilité et même écartement des tours de spire du filament.
- FIG. 36. — On note, accolé à un Spirochète typique, un microspirochète à trois tours de spire avec son filament caractéristique. (Frottis de sang de Cobaye pendant la *phase de décours*).

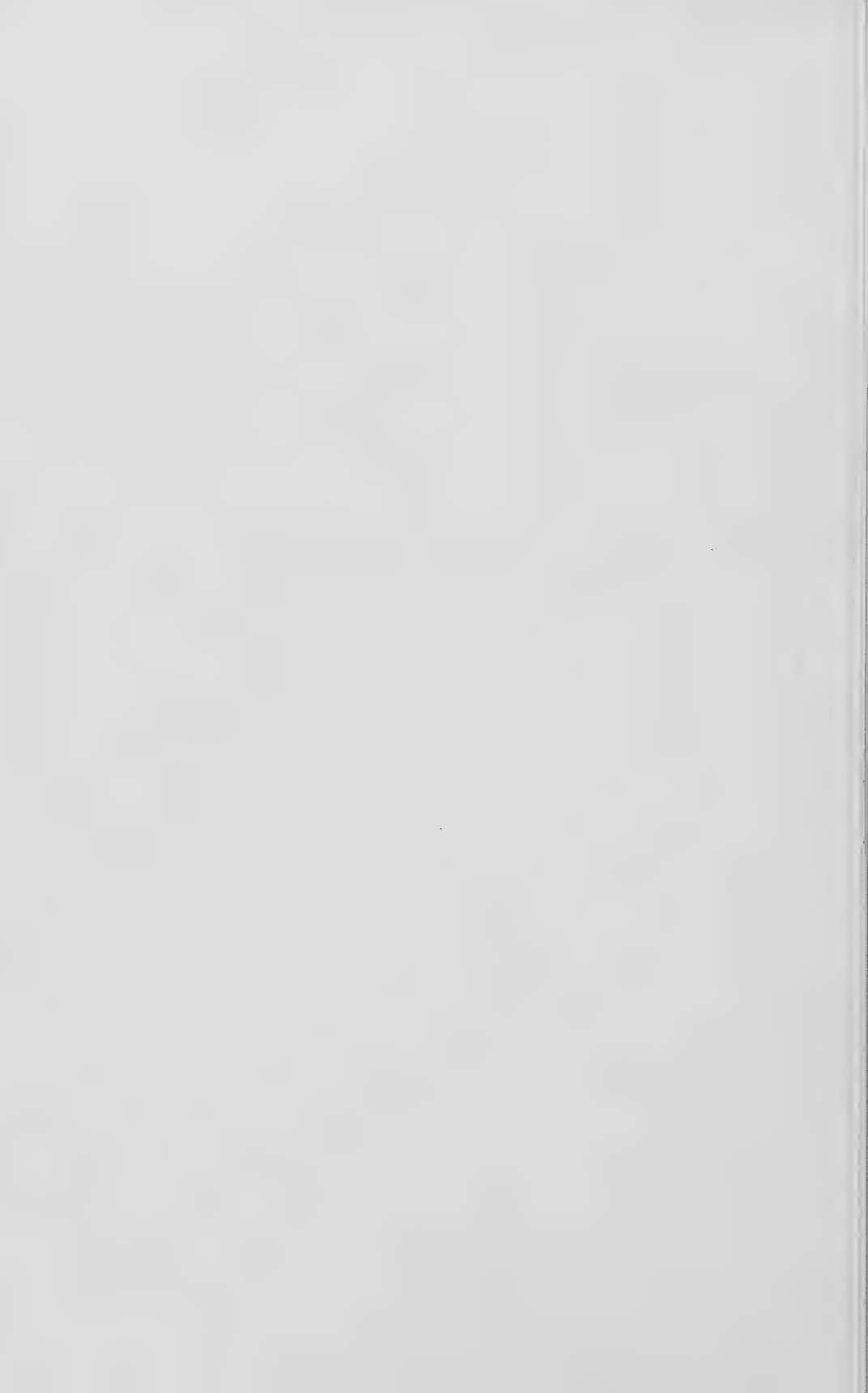
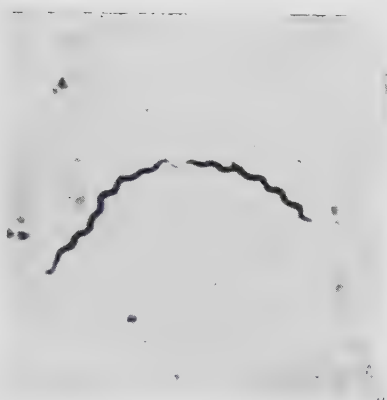
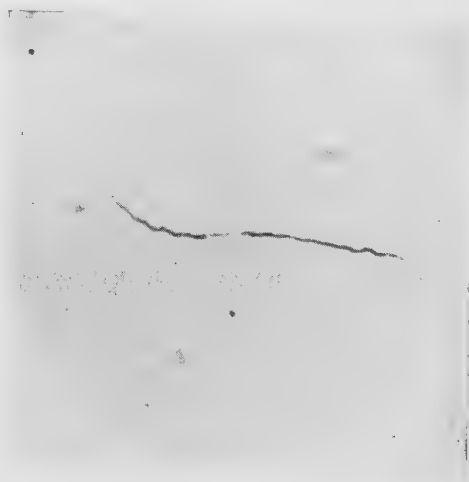


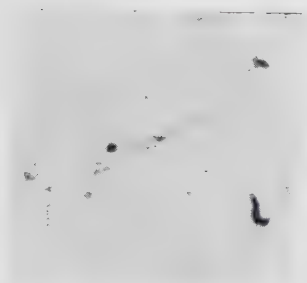
Planche X



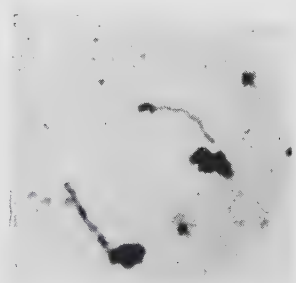
37



38



39



40

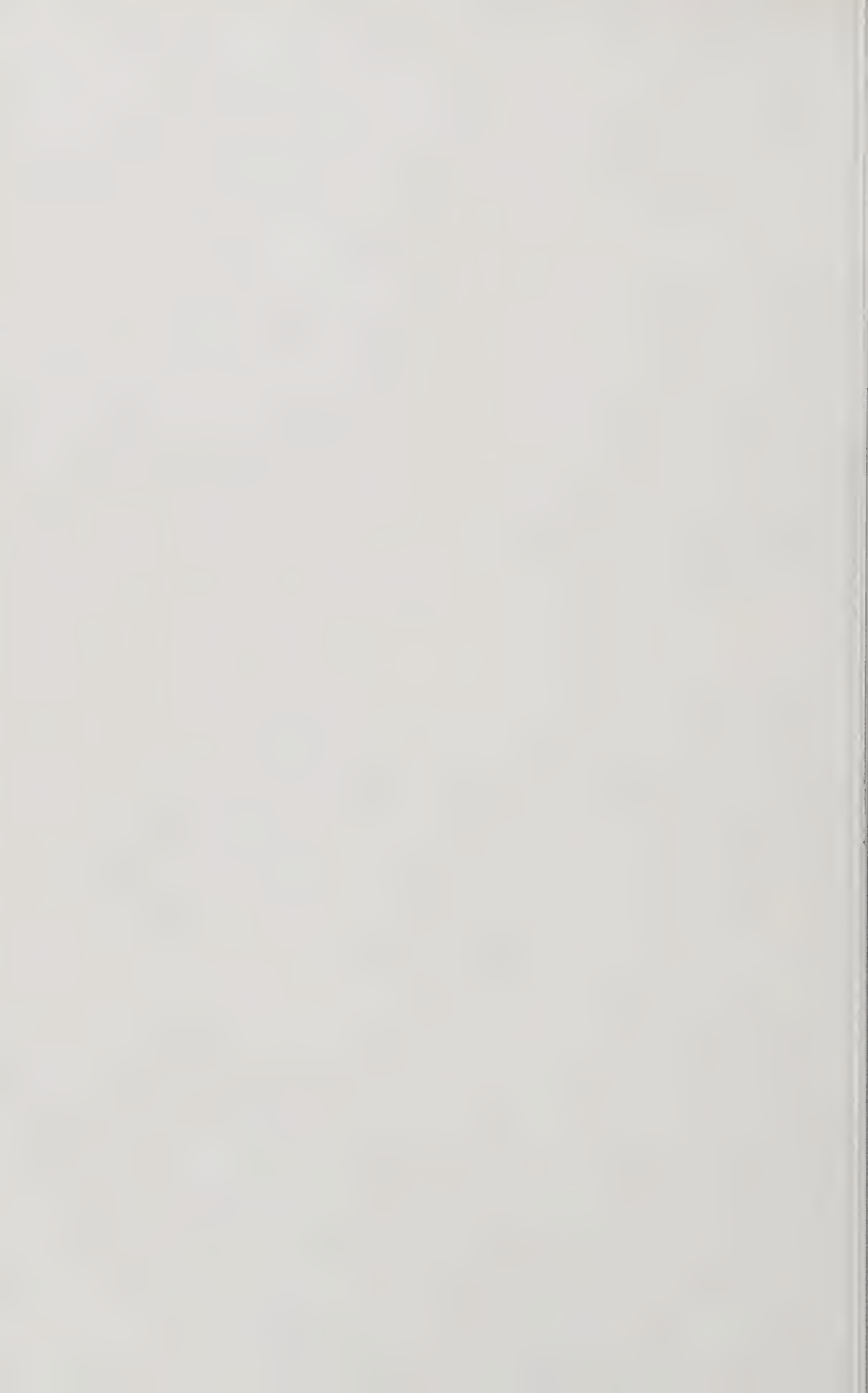
Spirochaeta duttoni

FIG. 37. — Deux parasites en voie de division homotypique égale et encore unis par la charnière périplasmique. (Frottis de sang de Souris).

FIG. 38. — Division hétérotypique multiple. On note trois Spirochètes à plusieurs tours de spire ainsi que des spirochétogènes. Ces éléments sont réunis par le périplasme étiré. (Frottis de culture de 7 jours en milieu Marchoux-Chorine).

FIG. 39. — Granule spirochétogène muni d'un filament bipolaire. (Frottis de sang de Souris au 6^e jour de l'infection).

FIG. 40. — Microspirochète avec son filament ondulé. (Frottis provenant d'une culture de 22 jours en milieu Marchoux-Chorine).



au développement des formes hélicoïcales, le second inoculé à un animal neuf et le troisième a été dilué, centrifugé, fixé aux vapeurs d'acide osmique et imprégné à l'argent.

A) Phase de latence (avant l'apparition des Spirochètes)

1. EXPÉRIENCES NÉGATIVES

Expérience n° 1. — Le 28 février 1941, un Cobaye, femelle, de 200 gr. n° 164, est piqué par un lot de dix exemplaires d'*Ornithodoros erraticus* (souche de Sidi abderhamane). Le sang de l'animal est examiné quotidiennement et se montre indemne de Spirochètes. La température de l'animal est normale et oscille au voisinage de 39° C.

Le 3 mars, l'animal est sacrifié au troisième jour de l'infection. Le sang prélevé stérilement par ponction intra-cardiaque est ensemencé dans trois tubes de milieu de culture de MARCHOUX et CHORINE ($pH = 7,5$). Un Cobaye, femelle, de 350 gr. n° 165, est inoculé avec 2 cc. de sang total. Les cultures sont demeurées négatives jusqu'au 17 mars, c'est-à-dire que nous n'avons jamais pu saisir de Spirochètes et que ces mêmes cultures inoculées à des Cobayes n°s 165 A et 165 B, respectivement le 5 et le 10 mars, n'ont pas conféré la maladie aux animaux.

Réinoculé plus tard avec le même virus provenant de cultures jeunes de *Sp. hispanica*, le Cobaye n° 165 a contracté la maladie dans les délais normaux.

Expérience n° 2. — Le 24 mars 1941, un Cobaye, mâle, de 450 gr. n° 169, est mis à piquer par un lot de huit exemplaires d'*Ornithodoros erraticus* (souche n° 463 XX du Pr BRUMPT). Le sang de l'animal ne présente aucun Spirochète typique et sa température demeure normale jusqu'au 28 mars. A cette date, l'animal est sacrifié et son sang prélevé par ponction intra-cardiaque, est ensemencé dans trois tubes de culture. Deux cc. de sang total sont inoculés à un Cobaye neuf, mâle, de 525 gr. n° 170. Ce dernier meurt le 7 avril sans avoir contracté la maladie et les milieux de culture demeurent indemnes de Spirochètes.

Expérience n° 3. — Le 5 juin 1941, un Cobaye, femelle, de 525 gr. n° 182, est piqué par un lot d'*Ornithodoros erraticus* (souche du Pr BRUMPT, n° 463 XX). Le 9 juin, quatre jours plus tard, l'animal est sacrifié. Son sang recueilli comme précédemment est divisé en deux lots. Le premier est inoculé à raison de 2 cc. à une Souris, femelle, n° 184. Cette dernière demeure négative jusqu'au 16 juin, en dépit des examens quotidiens. Le second lot, d'un volume de 4 cc. est dilué à parties égales dans de l'eau physiologique, centrifugé, étalé sur lames et fixé aux vapeurs d'acide osmique. L'examen des préparations après imprégnation argentique ne montre la

présence d'aucune forme spirochétienne ni celle de spirochétogènes.

2. EXPÉRIENCES POSITIVES

Expérience n° 4. (Exp. témoin). — Le 28 avril 1941, un Cobaye, femelle, de 450 gr. n° 175, est mis à piquer par le même lot d'*Ornithodoros erraticus* (souche du P^r BRUMPT, n° 463 XX). Le sang de l'animal demeure indemne de toute forme hélicoïdale jusqu'au 4 mai (6^e jour de la maladie) date à laquelle on voit apparaître quelques Spirochètes.

Le nombre des parasites va en croissant et atteint son maximum le 7 mai.

Expérience n° 5. — Le 19 mai 1941, un Cobaye, mâle, de 250 gr. n° 178, est mis à piquer par le même lot d'*Ornithodoros erraticus* qui a transmis la maladie au Cobaye n° 175 par piqûre, dans les délais normaux.

Le sang de l'animal ne présente aucun parasite typique et sa température ne se modifie pas jusqu'au 24 mai, date à laquelle il est sacrifié (5^e jour de la maladie).

Le sang de l'animal estensemencé dans un tube de milieu de culture.

Un Cobaye, femelle, de 470 gr. n° 181, est inoculé avec 2 cc. de sang total provenant du Cobaye n° 178. Ce dernier présente de rares Spirochètes le 26 (+), au 2^e jour de l'infection. Le nombre des parasites va en croissant et atteint son maximum le 29 (++++), date à laquelle l'animal est sacrifié.

Le tubeensemencé avec du sang ne renfermant pas de Spirochètes visibles au fond noir, a montré le 26, quelques parasites typiques mais plus courts et plus fins que les formes sanguicoles typiques.

Nous avons pratiqué des frottis avec du sang dilué dans de l'eau physiologique et centrifugé à 4.000 t./m., provenant du Cobaye n° 178. Nous n'avons pas constaté la présence de Spirochètes typiques, mais seulement quelques granules spirochétogènes et de nombreux microspirochètes (Pl. VIII, fig. 29, 30, 31 et 32).

Expériences n°s 6 et 7. — Le 9 juin 1941, le précédent lot d'*Ornithodores* est mis à gorger sur un Cobaye, femelle, de 620 gr. n° 183. L'animal contracte la maladie le 17 (+). Le nombre des parasites dans le sang atteint (++++) le 21 juin.

a) *Expérience n° 6.* — Le 14 juin, cinq jours après avoir été piqué, nous ponctionnons l'animal. Le sang est réparti comme suit dans deux tubes stériles :

Le 1^{er} est inoculé à un Cobaye, femelle, de 210 gr. n° 185, qui contracte la maladie le 18 (+) et présente des Spirochètes en plus grand nombre le 19 et le 21;

Le 2^e est dilué, centrifugé, fixé et imprégné à l'argent. Sur les préparations nous n'avons noté aucune forme hélicoïdale,

mais nous avons décelé des spirochétogènes (Pl. IX, *fig. 33*) et des microspirochètes.

b) Expérience n° 7. — Le 16 juin, nouvelle ponction du Cobaye n° 183 (7^e jour de la maladie). Le sang ne renferme aucun élément spirochétique mais des microspirochètes et des spirochétogènes (Pl. IX, *fig. 34* et *35*). Inoculé à une Souris n° 184 A, l'animal est infecté et présente de nombreux Spirochètes le 18 (+++). La Souris devient négative le 19.

B) Phase de décours

(au moment de la disparition des Spirochètes)

Après avoir exposé la série d'expériences ayant trait à l'étude du sang pendant la période qui précède l'invasion (phase de latence), nous rapporterons le résultat d'un examen de sang fait au moment de la défervescence, alors que le nombre des parasites allait en diminuant dans le sang circulant.

Expérience n° 8. — Un Cobaye, mâle, de 350 gr. n° 103, inoculé le 29 janvier 1940 avec le filtrat de *Sp. hispanica* a contracté la maladie le 10 février (+). Le 11 février, le nombre des parasites était de (++), le 12 de (+++), le 14 de (++), le 15 de (++)... et le 22 de (++).

Le 22 février, nous ponctionnons le Cobaye. Le sang recueilli est dilué à parties égales dans de l'eau physiologique, puis filtré sur coton de verre qui retient un grand nombre de globules rouges. Le liquide recueilli est étalé sur lames et fixé aux vapeurs d'acide osmique. L'examen des préparations nous montre des Spirochètes en voie de division homotypique, quelques-uns en voie de division hétérotypique ainsi qu'un microspirochète relié à un spirochétogène par un filament ondulé (Pl. IX, *fig. 36*).

Nous résumerons nos expériences dans le tableau ci-contre :

TABLEAU IV

Exp. n°	Date de la ponction	Résultat			Temps d'incubat.
		des cultures	des frottis	de l'inoculat.	
1....	3 ^e jour	négatives	néant	165 : négatif	
2....	4 ^e jour	négatives	néant	170 : négatif	
3....	4 ^e jour		néant	184 : négatif	
4....	6 ^e jour	positif	Spirochètes		6 jours
5....	5 ^e jour	positif	microspirochètes et spirochétogènes	181 : positif	2 jours
6....	5 ^e jour		id.	185 : positif	4 jours
7....	7 ^e jour		id.	184 A/positif	2 jours
8....	24 ^e jour		Spirochètes microspirochètes et spirochétogènes		

L'expérience n° 3 a été faite à titre de témoin pour contrôler si le lot d'*O. erraticus* était toujours infectant par piqure. Toutes ces expériences seront à reprendre pour *Sp. gallinarum* dès que les conditions de telles recherches seront devenues plus favorables.

Des ces expériences, peu nombreuses certes, nous pouvons tirer quelques conclusions. Il sera nécessaire, bien entendu, de procéder à une expérimentation plus étendue en vue de préciser quelques points du cycle de *Sp. hispanica* chez le Cobaye, comme, par exemple, le mode de formation des spirochétogènes et des microspirochètes qui apparaissent dans le sang vers le 5° jour.

1° Le sang du Cobaye, ne renfermant aucun Spirochète visible au fond noir, ne devient pathogène pour un animal neuf que lorsqu'il est prélevé vers le 5° jour, c'est-à-dire quelques heures avant l'apparition des premiers éléments hélicoïdaux.

2° Les frottis faits à partir de sang de Cobaye prélevé au 5° jour de la maladie ne nous ont montré aucun élément spirochétique, mais seulement quelques spirochétogènes et des microspirochètes à 3, 2, 1, 1/2, 1/4 de tour de spire munis ou non du filament terminal.

3° La culture d'une forme « invisible » mais pathogène ne réussit que si l'on procède à l'ensemencement de sang de Cobaye piqué depuis 5 jours par *O. erraticus*.

4° Les Spirochètes qui apparaissent dans les tubes de culture au 2° jour après l'ensemencement de sang ne renfermant que des microspirochètes, sont souvent plus courts et plus fins que les Spirochètes typiques.

5° A la fin de la crise de la maladie chez le Cobaye, on assiste à l'apparition, dans le sang de l'animal, de microspirochètes, de Spirochètes courts et de spirochétogènes comme le montre la figure n° 36.

6° Il semble que la forme « infravisible » de MARCHOUX et CHORINE corresponde à la période de division hétérotypique pendant laquelle microspirochètes et spirochétogènes font leur apparition.

7° Il se produit chez l'animal infecté, une alternance des modes de division : hétérotypique - homotypique - hétérotypique. La division homotypique correspond à la période pendant laquelle les Spirochètes sont apparus dans le sang du Cobaye (période d'invasion).

8° Il existe très vraisemblablement un cycle chez l'animal, comme il en existe un *in vitro*, comprenant toute une série de formes intermédiaires.

Conclusions générales

1. — Les Spirochètes sont des microorganismes que les travaux modernes et plus particulièrement les travaux américains, font ranger dans un ordre intermédiaire entre les Protophytes et les Protozoaires, constitué par les Schizomycètes Naegeli.

Pour PRÉVOT (1940), les Spirochètales Buchanan constituent la 7^e classe des Schizomycètes.

2. — Les Spirochètes se multiplient par division transversale normale (homotypique) et anormale (hétérotypique). Ce dernier processus aboutit à la libération de granules spirochétogènes qui font partie du cycle évolutif des organismes spirochètiens.

3. — Les granules spirochétogènes sont filtrables sous certaines conditions. C'est ainsi que les bougies Chamberland L1 *bis* ou L1 arrêtent les formes hélicoïdales mais laissent passer les spirochétogènes de *Sp. duttoni* et de *Sp. hispanica*. Ces mêmes spirochétogènes ne passent pas au travers des bougies L3 ou L2.

4. — Les filtrats contenant des granules spirochétogènes sont pathogènes pour les animaux de laboratoire (Cobaye). Le temps d'incubation de la maladie dont nous nous sommes occupé est en moyenne de 6 à 8 jours après la morsure d'*Ornithodoros erraticus* et de 4 à 6 jours après inoculation d'une culture non filtrée. Par contre, chez un animal inoculé avec le filtrat de cultures vieilles, l'incubation est de 12 jours en moyenne. Cette diminution du pouvoir infectieux est peut-être due à la présence, dans le filtrat, de substances immunisantes comme l'avaient supposé NOVY et KNAPP (expériences faites avec *Sp. obermeieri*).

5. — La grande virulence du sang pendant la période de « latence » est due à la présence dans ce liquide de nombreux spirochétogènes et microspirochètes.

6. — Cette virulence ne peut être expliquée par l'existence d'une forme erratique ou exceptionnelle, car dans ces condi-

tions, les cultures seraient demeurées négatives. L'expérience enseigne que pour réussir ces cultures de Spirochètes, il faut ensemercer richement les milieux.

7. — Nos observations fournissent une explication complète de phénomènes jugés jusqu'à présent inexplicables : notamment l'apparition « explosive » des formes hélicoïdales dans le sang vers le 6^e jour de la maladie. On comprend, en effet, que les microspirochètes, passés inaperçus quoique abondants dans le sang, semblent apparaître brusquement et en masse dès que leur croissance rend possible leur examen direct au microscope.

8. — La présence tardive de granules spirochétogènes dans le sang du Cobaye, au moment de la raréfaction des Spirochètes (divisions hétérotypiques à la phase de décours), permet alors d'apporter une solution au problème posé par la virulence de certains organes profonds (rate, cerveau, etc.).

9. — Ces conclusions qui reposent sur des observations et des expériences, ne nous donnent pas cependant la solution complète de tous les problèmes posés. Ainsi MARCHOUX et CHORINE, opérant sur un test différent (*Sp. gallinarum*), affirment que le sang de la Poule est virulent dès la 12^e heure après l'infection. Dans le cas de la fièvre récurrente à *Sp. hispanica*, nous n'avons pu constater cette virulence qu'à partir du 5^e jour. Peut-être cela tient-il au fait que nous n'avons pu pratiquer qu'un petit nombre d'expériences. Des recherches ultérieures nous montreront s'il existe sur ce point une différence entre la spirochétose aviaire et la spirochétose expérimentale du Cobaye.

10. — Ces recherches faites *in vitro* et *in vivo* nous paraissent présenter, en outre, un intérêt d'ordre thérapeutique. Les spirochétogènes, (formes de multiplication) particulièrement nombreux dans les cultures et dans l'organisme à une période de souffrance, ne seraient-ils pas aussi la forme de résistance du parasite ? En ce qui concerne la syphilis, seule maladie sur laquelle nous possédions déjà quelques observations, nous avons pu, par la recherche du spirochétogène dans les ganglions humains, poser le diagnostic de certitude avant même d'avoir pu observer les formes hélicoïdales. Dans un cas de syphilis sans chancre apparent, la réaction sérologique de Hecht n'est devenue positive que 11 jours plus tard ; la réaction de Wassermann, 26 jours plus tard. De plus, nous avons trouvé des spirochétogènes dans les adénopathies syphilitiques chez des malades en cours de traitement et après le traitement (5 gr. 10 d'arsénobenzol). Ces formations ont été décelées également chez des malades atteints d'accidents tertiaires plus ou moins typiques.

11. — Enfin, on sait que l'agent du Paludisme subit un

cycle évolutif et que l'on rencontre des stades différents suivant l'hôte infecté (schizogonie et gamétogonie chez l'Homme, sporogonie chez le Moustique). Pour lutter contre l'un ou l'autre de ces stades, il faut avoir recours à des composés chimiques très différents. Or, dans la syphilis, la thérapeutique des accidents du début (où fourmillent les formes hélicoïdales) et celle des accidents tardifs (rares Spirochètes, mais présence de spirochètogènes) sont conditionnées par l'emploi de médicaments également très différents. De ce parallèle, nous pouvons tirer un argument de plus en faveur du cycle évolutif des Spirochètes.

Nous formulons l'espoir, en terminant, que le biologiste et le thérapeute pourront trouver, dans ce modeste travail, quelques renseignements utiles à leurs recherches sur les spirochètoses.



INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- 1908 BALFOUR (A.). — Spirochaetosis of Sudanese Fowls. *Third report Wellcome Research Lab.*, Khartoum, pp. 38-58, 2 pl. h. texte.
- 1911 BALFOUR (A.). — The role of infective granule in certain Protozoal infections as illustrated by the Spirochaetosis of Sudanese Fowls. *Journ. Trop. Med. and Hyg.*, XIV, pp. 113-114.
- 1911 a BALFOUR (A.). — The infective granule in certain Protozoal infections as illustrated by the Spirochaetosis of Sudanese Fowls. *Brit. Med. Journ.*, I, p. 752.
- 1911 b BALFOUR (A.). — The role of the infective granule in certain Protozoal diseases. *Journ. of Trop. Med. and Hyg.*, XIV, pp. 263-264.
- 1911 c BALFOUR (A.). — Spirochaetosis of Sudanese Fowls. *Fourth report Wellcome Research Lab.*, Khartoum, vol. A, pp. 76-107, 2 pl. h. texte.
- 1912 BALFOUR (A.). — The Life-cycle of *Spirochaeta gallinarum*. *Parasitology*, V, 2, pp. 122-126.
- 1906 BENDA (C.). — Verhandlungen ärztlicher Gesellschaften, Berlin. *Mediz. Gesellschaft*, Ref. *Berlin. Klin. Woch.*, pp. 989-990.
- 1906 BERGER (F. R. M.). — Zur kenntnis der *Spirochaeta pallida*. *Dermatol. Zeitschr.*, XIII, pp. 401-409, pl. VI-VII.
- 1932 BESSEMAN (A.). — Que penser de l'existence d'une forme invisible du virus syphilitique et pourquoi la rendre seule responsable du pouvoir pathogène spécifique ? *Bull. Acad. Méd. Belgique*, XII, pp. 569-580.
- 1932 a BESSEMAN (A.). — Sur les formes différentes et le pouvoir pathogène de l'agent étiologique de la syphilis. *Rev. de Médecine*, XLI, 10, pp. 581-602.
- 1933 BESSEMAN (A.). — Que penser de l'existence d'une forme invisible du virus syphilitique et pourquoi la rendre seule responsable du pouvoir pathogène spécifique ? *Journ. de Méd. de Paris*, 23, pp. 504-507.
- 1933 a BESSEMAN (A.) et Van Haelst (J.). — Persistance comparée *in vitro* de la mobilité des Tréponèmes pâles provenant des syphilomes testiculaires ou des ganglions lymphatiques du Lapin syphilitisé. *C. R. Soc. Biol.* CXV, pp. 196-199.
- 1934 BESSEMAN (A.), Van Haelst (J.) et de Wilde (H.). — Experimentelle Untersuchungen über die Frage der Existenz einer unsichtbaren Form des Syphiliserregers und der Erregers der Spontanen Kaniinchenspirochätose. *Wiss. Woche. Frankfurt a. M.*, IV. Chemotherapie, 1, p. 194.
- 1934 a BESSEMAN (A.), Van Haelst (J.) et de Wilde (H.). — Contribution à l'étude expérimentale du Problème de l'Existence d'une Forme invisible de l'Agent étiologique de l'infection syphilitique et de celui de la Spirochétose spontanée du Lapin. *Bull. Ass. Dipl. Micr. Fac. Pharm.*, Nancy, 9, pp. 1-28.
- 1935 BESSEMAN (A.). — Contribution à l'étude de quelques problèmes de syphiligraphie expérimentale. *Le Scalpel*, 15, pp. 441-467.

- 1935 a BESSEMANS (A.). — Contribution à l'étude de quelques problèmes de Syphiligraphie expérimentale. *Giorn. Batteriol. e Immunol.*, Torino, XIV, 5, pp. 1309-1345.
- 1935 b BESSEMANS (A.), Van HAELEST (J.) et de WILDE (H.). — An experimental study of the problem of the existence of an invisible form of the syphilitic virus and of spontaneous spirochetosis in rabbits. *Amer. Journ. of Syph. and Neurol.*, XIX, pp. 161-182.
- 1935 c BESSEMANS (A.) et Van HAELEST (J.). — Contrôle de la persistance comparée, dans divers milieux *in vitro*, de la mobilité des Tréponèmes pâles provenant des syphilomes testiculaires du Lapin ou des ganglions lymphatiques contemporains. *C. R. Soc. Biol.*, CXIX, 26, pp. 1162-1165.
- 1935 d BESSEMANS (A.) et Van HAELEST (J.). — Comparaison de la persistance, au sein d'émulsions homogènes, de la mobilité et de la virulence de *Treponema pallidum* des syphilomes testiculaires du Lapin ou des ganglions lymphatiques correspondants. *C. R. Soc. Biol.*, CXX, 33, pp. 509-512.
- 1936 BESSEMANS (A.). — Variations morphologiques et fonctionnelles du virus syphilitique. *Arch. dermato-syphiligr. Clin. Hôp. Saint-Louis* (Paris), VIII, pp. 1-45.
- 1936 a BESSEMANS (A.), Van HAELEST (J.), de WILDE (H.) et JANSSENS (P.). — Mise au point de certaines questions de Syphilis expérimentale relatives à une technique spéciale d'examen microscopique sur fond noir et à l'hypothèse de l'existence d'une forme invisible du virus syphilitique. *Ann. Inst. Pasteur*, LVII, 1, pp. 5-27.
- 1937 BESSEMANS (A.) et de MOOR (A.). — Sur la présence du Tréponème pâle dans l'encéphale et dans quelques autres organes de la souris syphilitisée selon le mode asymptomatique. *Bull. Soc. Franç. Dermatol. et Syphiligr.*, 4, pp. 483-492.
- 1911 BLANC (G.-R.). — Les Spirochètes. Contribution à l'étude de leur évolution chez les Ixodidae. *Thèse Doct. Med.* (Paris), 129 p., 2 pl. h. texte, Jouve et C^o, édit. (Paris).
- 1938 BONÉ (G.). — L'infection des Ornithodores moubata par le Spirochète de Dutton. *C. R. Soc. Biol.*, CXXIX, 32, pp. 903-905.
- 1939 BONÉ (G.). — La transmission héréditaire du Spirochète de Dutton chez *Ornithodoros moubata*. *C. R. Soc. Biol.*, CXXX, 1, pp. 86-87.
- 1939 a BONÉ (G.). — Contribution à l'étude de la transmission de la fièvre récurrente tropicale (premier mémoire). *Ann. Soc. Belge de Med. Trop.*, XIX, 3, pp. 279-334.
- 1940 BONNIN (H.) et JEANSOTTE (G.). — L'infection latente résiduelle des Récurrentes expérimentales. *Biol. Médicale*, XXX, 5, pp. 121-171.
- 1905 BORREL (A.) et MARCHOUX (E.). — Argas et Spirilles. *C. R. Soc. Biol.*, LVIII, pp. 362-364.
- 1911 BOSANQUET (W. C.). — Brief notes on the structure and development of *Spirochaeta anodontae* Keysseltz. *Quart. Journ. Micr. Sc.*, LVI, pp. 387-393, 1 pl. h. texte.
- 1911 a BOSANQUET (W. C.). — Spirochaetes. 1 vol., 152 p., 90 fig. W. Saunders C^o, Philadelphia and London.
- 1906 BOSC (F. J.). — *Treponema pallidum* (Schaudinn) dans les lésions de la Syphilis héréditaire. Formes de dégénérescence des Tréponèmes et leur ressemblance avec *Spirochaeta refringens*. *C. R. Soc. Biol.*, pp. 338-340.
- 1906 a BOSC (F. J.). — Gommès syphilitiques et Tréponèmes. Structure générale et signification des gommès. *C. R. Soc. Biol.*, pp. 340-342.
- 1906 BREINL (A.) et KINGHORN (A.). — An experimental study of the parasite of African Tick-fever (*S. Duttoni*). *Liverpool Sch. of Trop. Med.*, Mem., XXI, pp. 1-52.
- 1907 BREINL (A.). — On the Morphology and Life-history of *Spirochaeta duttoni*. *Ann. of Trop. Med. a. Parasitol.*, Liverpool, I, 3, pp. 435-438, 1 pl. h. texte.
- 1921 BROWN (W. H.) et PEARCE (L.). — Latent infections with the demonstration of *Spirochaeta pallida* in lymphoid tissues. *The Amer. Journ. of Syph.*, V, pp. 1-8.

- 1936 BRUMPT (E). — Précis de Parasitologie. 2 vol., 5^e édit., 2139 p., 4 pl. h. texte, Masson et C^o, édit. (Paris).
- 1927 BRUYNOGHE (R.), de GREEF (Et.) et DUBOIS (A). — L'hémoculture dans la fièvre récurrente humaine. *C. R. Soc. Biol.*, XCVI, pp. 1071-1072.
- 1922 BUSCHKE (A.) et KROO (H.). — Histologischer nachweis von Spirochäten im Gehirnparenchym bei experimenteller Recurrens. *Klin. Woch.*, I, pp. 2470-2471, cf. également p. 2323 et suiv.
- 1907 CARTER (R. M.). — The presence of *Spirochaeta duttoni* in the Ova of *Ornithodoros Moubata*. *Ann. of Trop. Med. a. Parasitol.*, Liverpool, I, 1, pp. 157-160, 1 pl. h. texte.
- 1908 CARTER (R. M.). — A preliminary note on Spirochaetosis in Southern Arabia and the Morphology of the Parasite. *Indian Med. Gaz.*, XLIII, pp. 370-374, 5 pl. h. texte.
- 1882 CERTES (A.). — Note sur les parasites et les commensaux de l'Huitre. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, VII, pp. 347-353.
- 1891 CERTES (A.). — Sur le *Tr. balbianii*. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, XVI, p. 95 et pp. 130-131.
- 1939 CHABAUD (A.). — Infection de l'embryon de Poule par *Spirochaeta duttoni* et *Spirochaeta ictero-hemorragiae*. *Bull. Soc. Path. Exot.*, XXXII, 5, pp. 483-485.
- 1912 CHATTON (Ed.). — *Treponema drosophilae* n. sp. Agglutination par le suc des cellules intestinales de l'hôte et cytolysé. *C. R. Soc. Biol.*, LXXXIII, pp. 212-214.
- 1936 COLES (A. C.). — Observations on the Life-history of Spirochaetes of Relapsing fever. *Journ. of Trop. Med. a. Hyg.*, XXXIX, 7, pp. 77-81, 7 fig. et 12 microph.
- 1931 CONSTANTINESCO (N.). — Culture cellulaire et virus recurrentiel (*Spirochaeta duttoni*, souche Brazzaville). *C. R. Soc. Biol.*, CVIII, 38, pp. 1116-1117.
- 1926 DAMON (S. S. R.). — A note on the Spirochetes of termites. *Journ. of Bacteriol.*, XI, pp. 31-36.
- 1911 DOBELL (C.). — Brief notes on the structure and development of *Spirochaeta anodontae* Keysseltz. *Quart. Journ. Micr. Sc.*, LVI, pp. 387-393, 1 pl. double.
- 1911 a DOBELL (C.). — On *Cristispira veneris* nov. sp. and the affinities and classification of Spirochaets. *Quart. Journ. Micr. Sc.*, LVI, 2, pp. 507-542, 1 pl. h. texte.
- 1911 b DOBELL (C.). — The principles of Protistology. *Archiv f. Protistenk.*, XXIII, pp. 269-310.
- 1912 DOBELL (C.). — On the systematic Position of the Spirochaets. *Proc. Roy. Soc. Biol.*, LXXXV, pp. 186-191.
- 1912 a DOBELL (C.). — Researches on the Spirochaets and related organisms. *Archiv f. Protistenk.*, XXVI, pp. 117-240, 5 pl. h. texte.
- 1906 DOUTRELEPONT. — *Spirochaeta pallida* im gefärbten Schnittpräparat. *Deut. Med. Woch.*, XXVIII, p. 1060.
- 1912 DUBOSCQ (O.) et LEBAILLY (C.). — Les Spirochètes des Poissons de Mer. *Arch. Zool. Exp. et Gén.*, X, pp. 331-369, pl. XXIX.
- 1912 a DUBOSCQ (O.) et LEBAILLY (C.). — Sur les Spirochètes des Poissons de Mer. *C. R. Acad. Sc.*, pp. 662-664.
- 1927 DUBOSCQ (O.) et GRASSÉ (P.). — Flagellés et Schizophytes de *Calotermes* (*Glyptotermes*) *Iridipennis* Froog. *Arch. Zool. Exp. et Gén.*, LXVI, pp. 451-496, pl. XVI à XIX.
- 1905 DUTTON (J. E.) et TODD (J. L.). — The nature of tick fever in the eastern part of the Congo Free State. *Brit. Med. Journ.*, 2, pp. 1259-1260.
- 1907 DUTTON (J. E.) et TODD (J. L.). — A note on the morphology of *Spirochaeta duttoni*. *The Lancet*, pp. 1523-1525.
- 1931 EBERSON (F.) et MOSSMAN (W. G.). — *Spirochaeta hispanicum* (var. *Marocanum*). Application in Fever Therapy and Diseases of Central Nervous System. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, XXIX, 1, pp. 108-111.

- 1907 FANTHAM (H. B.). — *Spirochaeta (Trypanosoma) balbianii* Certes, its movements, structure and affinities, and on the occurrence of *Sp. anodontae* Keyssel. in the British mussel, *Anodonta cygnea*. *Ann. and Mag. of. Nat. Hist.*, ser. 7, XIX, pp. 493-501.
- 1908 FANTHAM (H. B.). — *Spirochaeta (Trypanosoma) balbianii* Certes and *Spirochaeta anodontae* Keysselitz; their movements, structure and affinities. *Quart. Journ. Micr. Sc.*, LII, pp. 1-73, 3 pl. h. texte.
- 1908 a FANTHAM (H. B.). — The Spirochaetes : a review of some Border-line organisms between animals and plants. *Science progress*, III, 9, pp. 148-162, 4 fig.
- 1909 FANTHAM (H. B.) et PORTER (A.). — The mode of division of *Spirochaeta recurrentis* and *S. duttoni* as observed in the Living Organisms. *Proc. of the Roy. Soc. B.*, LXXXI, pp. 500-505.
- 1910 FANTHAM (H. B.). — The Spirochaetes found in the crystalline style of *Tapes aureus* : A study in morphological variation. *Parasitology*, II, 4, pp. 392-408, 1 pl. h. texte.
- 1911 FANTHAM (H. B.). — Some researches on the Life-Cycle of Spirochaetes. *Ann. of Trop. Med. a. Parasitol.*, Liverpool, V, 3, pp. 479-496, 6 fig.
- 1914 FANTHAM (H. B.). — The granule phase of Spirochaetes. *Ann. of Trop. Med. a. Parasitol.*, Liverpool, VIII, pp. 471-484.
- 1915 FANTHAM (H. B.). — *Spirochaeta bronchialis*, Castellani 1907, together with remarks on the Spirochaetes of Human mouth. *Ann. of Trop. Med. a. Parasitol.*, IX, 2, pp. 391-412, 1 planche.
- 1916 FANTHAM (H. B.). — Spirochaetes and their granule phase. *Brit. Med. Journ.*, pp. 409-411.
- 1917 FONTANA (A.). — Ricerche sulla fine struttura del *Treponema pallidum*. *Pathologica*, IX, pp. 141-143.
- 1925 GALLOWAY (I. A.). — Cultures *in vitro* de *Spirochaeta duttoni* et de *Spirochaeta gallinarum*. *C. R. Soc. Biol.*, XCIII, pp. 1074-1076.
- 1934 GASTINEL (P.) et PULVENIS (R.). — Du rôle de la quantité de virus dans la syphilis expérimentale du Lapin. La dose seuil de l'infection inapparente. *Bull. Soc. Fr. Dermatol. et Syphiligr.*, 2, pp. 330-334.
- 1908 GONDER (R.). — Spirochaeten aus dem Darmtraktus von Pinna; *Spirochaeta pinnae*, nov. sp. und *Sp. hartmanni*, nov. sp. *Centralbl. f. Bakt., etc., Abt. I, Orig.*, XLVII, pp. 491-494, 1 pl.
- 1909 GONDER (R.). — Die Stellung der Spirochaeten unter den Protisten. Zugleich. Beitrag zur Kenntnis der *Spirochaeta pinnae*. *Centralbl. f. Bakt. etc., Abt. I, Orig.*, XLIX, 2, pp. 190-196, 2 pl.
- 1912 GONDER (R.). — Spirochaeten studien. *Zool. Jahrb. Supp.*, I, 15, pp. 485-514.
- 1910 GROSS (J.). — *Cristispira* n. g. Ein Beitrag zur Spirochätenfrage. *Mitth. Zool. Stat. Neapel*, XX, 1, pp. 41-93, 1 pl. double.
- 1911 GROSS (J.). — Ueber freilebende Spironemaceen. *Mitth. Zool. Stat. Neapel*, XX, pp. 188-203, 1 planche.
- 1912 GROSS (J.). — Zur Nomenklatur der *Spirochaeta pallida*. *Archiv f. Protistenk.*, XXIV, pp. 109-118.
- 1912 a GROSS (J.). — Ueber Systematik, Struktur et Fortpflanzung der *Spironemacea*. *Centralbl. f. Bakt., etc., Abt. I, Orig.*, LXV, pp. 83-98.
- 1913 GROSS (J.). — Sporenbildung bei *Cristispira*. *Archiv f. Protistenk.*, XXIX, pp. 279-292, 1 pl.
- 1906 HARTMANN (M.) et MÜHLENS (P.). — Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Zahnspirochaeten. *Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krankh.*, LV, pp. 92-112, 4 pl.
- 1913 HATA (S.). — A contribution to our knowledge of the cultivation of *Sp. recurrentis*. *Trop. med. of. XVII Intern. Med. Congress*, London, XXI, pp. 269-273.
- 1914 HATA (S.). — A contribution to our knowledge of the cultivation of *Sp. recurrentis*. *Centralbl. f. Bakt. etc., Abt. I, Orig.* LXXII, pp. 107-112.

- 1929 HATT (P.). — Observations sur l'Evolution des Spirochètes des Fièvres Récurrentes chez les Ornithodores. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, XVIII, 3 et 4, pp. 258-264.
- 1913 HELLMANN (G.). — Über die Excretionorgan des Ascidien der Gattung *Caesira* (*Molgula*) vorkommenden Spirochäten : *Spirochaeta caesirae septentrionalis* n. sp. und *Spirochaeta caesirae retortiformis* n. sp. *Archiv f. Protistenk*, XXIX, pp. 22-38, 28 fig.
- 1912 HENRY (H.). — *Spirochaeta pollachii*; a new blood inhabiting spirochaete from *Gadus pollachius*, the pollack; with a note on the occurrence of certain intracorpuseular bodies in the blood of the gadidae. *Journ. of Path. and Bact.*, XVII, pp. 160-164, 1 pl.
- 1913 HENRY (H.). — A consideration of the Infective granule in the Life-history of Protist Organisms. *Journ. of Path. and Bact.*, XVIII, 2, pp. 250-258.
- 1911 HINDLE (E.). — The transmission of *Spirochaeta duttoni*. *Parasitology*, IV, pp. 133-149 (Cambridge Univ. press).
- 1911 α HINDLE (E.). — On the Life-cycle of *Spirochaeta gallinarum*. Preliminary note. *Parasitology*, IV, pp. 463-477, 5 fig. and diagram in text.
- 1912 HINDLE (E.). — Note on the foregoing communication by Dr. A. Balfour. *Parasitology*, V, 2, p. 127.
- 1931 HINDLE (E.). — The Spirochaetes, commensal spirochaetes, blood Spirochetes and leptospiroses. *A system of Bacteriology in Relation to Medicine*. London. His Majesty's stationery office. 1 vol., 390 p., VIII, pp. 101-184 et 2 pl.
- 1935 HINDLE (E.). — Relapsing Fever, Some recent advances. *Trop. Dis. Bull.*, XXXII, 5, pp. 309-327.
- 1908 HOFFMANN (Er.). — Atlas der Atiologischen und Experimentellen Syphilisforschung. 1 vol., 54 pages, 34 pl. h. texte, J. Springer, édit. (Berlin).
- 1927 HOFFMANN (Er.) et ARMUZZI (G.). — Experimentelle Untersuchungen über salvarsanresistente Syphilisspirochäten. *Deut. Mediz. Woch.*, LIII, 2, pp. 51-53.
- 1927 α HOFFMANN (Er.), HOFFMANN (Ed.) et MULZER (P.). — Morphologie und Biologie der *Spirochaeta pallida*. Experimentelle Syphilis. *Handbuch der Haut-und Geschlechtskrankh.*, de Jadassohn, XV, pp. 33 et 115, J. Springer, édit. (Berlin).
- 1929 HOFFMANN (Er.). — Zur gränularen Form der syphilisspirochäte. *Dermatol. Woch.*, LXXXIX, pp. 2041-2042.
- 1916 HOLLANDE (A. C.). — Solution colorante à base d'éosinates d'azur et de violet de méthylène. *C. R. Soc. Biol.* LXXXIX, pp. 746-748.
- 1921 HOLLANDE (A. C.). — Présence d'un Spirochètoïde nouveau, *Cristispira caviae* n. g., n. sp. à membrane ondulante très développée, dans l'intestin du Cobaye. *C. R. Acad. Sc.*, Paris, CLXXII, pp. 1693-1696.
- 1922 HOLLANDE (A. C.). — Les Spirochètes des Termites. Processus de division; formation du schizoplaste. *Arch. Zool. Exp. et Gén.*, LXI, 2, Notes et Rev., pp. 23-28.
- 1924 HOLLANDE (A. C.). — Contribution à l'étude des Spirochètaccées. Structure histologique du *Cristispira tapetos* Schellack; formation du Kyste. *Arch. Zool. Exp. et Gén.*, LXII, 4, pp. 299-325.
- 1934 HOLLANDE (A. C.). — Contribution à l'étude cytologique des microbes (*Coccus*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Spirillum*, *Spirochaeta*). *Archiv f. Protistenk*, LXXXIII, 3, pp. 465-608, pl. 12-19.
- 1907 HÖLLING (A.). — *Spirillum giganteum* und *Spirochaeta balbianii*. *Centrabl. f. Bakt., etc.*, Abt. I, Orig., XLIV, pp. 665-668.
- 1911 HÖLLING (A.). — Vergleichende Untersuchungen über Spirochaeten und Spirillen. *Archiv f. Protistenk*, XXIII, pp. 101-124.
- 1932 INGRAHAM (N. R.). — The life history of *Treponema pallidum*. *The Amer. Journ. of Syph.*, XVI, pp. 155-190.

- 1906 JACQUET (L.) et SÉZARY (A.). — Surrénalité syphilitique de l'adulte. Présence de Tréponème pâle. *Bull. et Mém. Soc. Médic. Hôp. Paris*, pp. 314-319.
- 1907 JACQUET (L.) et SÉZARY (A.). — Des formes atypiques et dégénératives du Tréponème pâle. *Bull. et Mém. Soc. Médic. Hôp. Paris*, XXIV, pp. 114-116.
- 1933 JAHNEL (F.). — Untersuchungen ueber das Verhalten der Pathogenität von Spirochäten auf künstlichen Nährboden insbesondere ueber die willkürliche Beeinflussung der Pathogenität von Huhnerspirochätenkulturen. *Zentralbl. f. Bakt., etc., Abt. I, Orig.* CXXX, 5/6, pp. 349-357, 1 fig.
- 1929 JAHNEL (F.) et PRIGGE (R.). — Ueber den Histologischen Nachweis der *Spirochaeta pallida* in Organen syphilisinfizierter Mäuse. *Deut. Mediz. Woch.*, LV, pp. 694-695.
- 1932 JAHNEL (F.), PRIGGE (R.) et ROTHERMUNDT (M.). — Gibt es äusser den Spirochäten noch andere Erscheinungsformen oder Stadien des Syphiliserregers? *Dermatol. Zeitschr.* LXIV, pp. 7-29.
- 1933 JAHNEL (F.), PRIGGE (R.) et ROTHERMUNDT (M.). — Sobre el problema de un ciclo de desarrollo en el *Espiroquete pallida*, especialmente en la parálisis progresiva y tabes. Madrid.
- 1925 JEANSELME (Ed.) et SÉZARY (A.). — Précis de Syphiligraphie et des maladies vénériennes. 1 vol., 342 p., 66 fig. J.-B. Baillière, édit. (Paris).
- 1931 JEANSELME (Ed.). — Traité de la Syphilis. Tome II, Microbiologie, article de Touraine, pp. 46-52, Doin et Co, édit. (Paris).
- 1931 KANNER (W. Ferry). — La virulence du Tréponème de la Paralysie générale. *Thèse Doct. Méd.* (Paris), 63 p., Vigot, édit. (Paris).
- 1931 KATO (N.). — On the *Spirochaeta pallida* in the regional lymphatic nodes of the syphilitic mice. *Lues* (Kyoto), VI, 1, abstract, pp. 2-5.
- 1925 KERMORGANT (Y.). — Contribution à l'étude de l'Étiologie des Oreillons. *Ann. Inst. Pasteur*, XXXIX, 7, pp. 565-628, 6 pl.
- 1926 KERMORGANT (Y.). — Sur l'Étiologie des Oreillons. *Ann. de Médecine*, XIX, pp. 301-312.
- 1926 a KERMORGANT (Y.). — Les formes « invisibles » des Spirochètes. *Progrès Médical*, 16, pp. 599-600.
- 1906 KEYSSELITZ (G.). — Beschreibung von *Sp. anodontae*, nov. sp. *Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, XXIII, pp. 566-567, pl. II, fig. 13 a-13 f.
- 1909 KEYSSELITZ (G.) et MAYER (M.). — Über das Ulcus tropicum. *Archiv f. Schiffs. u. Tropen Hyg.* XIII, 5, 137-149, 1 pl. hors texte.
- 1913 KLEINE (F. K.) et ECKARD (B.). — Über die Lokalisation der Spirochaeten in der Ruckfallfieberzecke (*Ornithodoros moubata*). *Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krankh.*, LXXIV, pp. 389-394.
- 1932 KLEINE (F. K.) et KRAUSE (M.). — Zur kritik angeblicher Entwicklungsformen von Ruckfallfieber-Spirochäten in der Zecke (*Ornithodoros moubata*). *Archiv f. Schiffs. u. Trop. Hyg.*, XXXVI, 4, pp. 190-191.
- 1932 a KLEINE (F. K.) et KRAUSE (M.). — Zur Uebertragung der Ruckfallfieber spirochäten durch Zecken. *Archiv f. Schiffs. u. Trop. Hyg.*, XXXVI, 11, pp. 587-589.
- 1922 KLIGER (I. J.) et ROBERTSON (O. H.). — Cultivation of *Sp. obermeieri*. *Journ. of Exp. Med.*, XXXV, pp. 303-318.
- 1927 KNOWLES (R.), GUPTA (B. M. Das) et BASU (B. C.). — Preliminary Observations on the Morphology and Life history of *Spirochaeta anserina*. *Far Eastern Assoc. Trop. Med., Trans. Seventh Congress, British India*, II, pp. 573-581.
- 1913 KOLLE (W.) et WASSERMANN (A.). — Handb. der Pathogenen Mikroorganismen. 2^e édit.; Gustav Fischer, édit. (Iéna).
- 1930 KOLLE (W.), KRAUS (R.) et UHLENHUT (P.). — Hand. der Pathogenen Mikroorganismen. 3^e édit.; G. Fischer et U. Schwarzenberg, édit. (Berlin).

- 1920 KRITCHEWSKY (B.) et SÉGUIN (P.). — Spirochétoses buccales, reproduction expérimentale et traitement. *Rev. de Stom.*, XXII, 11, pp. 613-647.
- 1905 KRZYSTALOWICZ (Fr.) et SIEDLECKI (M.). — Contribution à l'étude de la structure et du cycle évolutif de *Spirochaeta pallida* de Schaudinn. *Bull. Acad. Sc. Cracovie*, 9, pp. 713-728, 1 pl. h. texte.
- 1905 a KRZYSTALOWICZ (Fr.) et SIEDLECKI (M.). — Contribution à l'étude de la structure et du cycle évolutif du *Spirochaeta pallida* de Schaudinn. *Rev. prat. des Mal. cut., syph. et vénér.*, 2, pp. 43-52, 2 pl. h. texte.
- 1908 KRZYSTALOWICZ (Fr.) et SIEDLECKI (M.). — Etude expérimentale de la Syphilis; morphologie du *Spirochaeta pallida*. *Bull. Acad. Sc. Cracovie*, 3, pp. 173-245, 2 pl. h. texte.
- 1908 a KRZYSTALOWICZ (Fr.) et SIEDLECKI (M.). — Etude expérimentale de la Syphilis; morphologie du *Spirochaeta pallida*. *Rev. prat. des Mal. cut., syph. et vénér.*, 11, pp. 315-341.
- 1938-1939 LAMACHE (R.). — La fièvre Récurrente Hispano-africaine à *Spirochaeta hispanicum*. Thèse Doct. Méd. (Lyon), 85 p. Bosc Fr., impr. (Lyon).
- 1936 LAN CHOU FENG et HUEI LAN CHUNG. — Studies on the development of *Spirochaeta duttoni* in *Ornithodoros moubata*. A preliminary report. *Chinese. Med. Journ.*, L, 9, pp. 1185-1190.
- 1931 LANDAUER (E.). — Sur la culture du Spirochète des Poules. *Ann. Inst. Pasteur*, XLVII, pp. 667-679.
- 1931 a LANDAUER (E.). — Etude du milieu dans lequel se cultive le Spirochète des Poules. *C. R. Acad. Sc.*, CXCI, 5, pp. 301-302.
- 1901 LAVERAN (A.) et MESNIL (F.). — Sur la nature bactérienne du prétendu trypanosome des Huîtres (*Tryp. balbianii* Certes). *C. R. Soc. Biol.*, LIII, pp. 883-885.
- 1921 LAVIER (G.). — Les parasites des Invertébrés hématophages. Thèse Doct. Méd. (Paris), 218 pages, Vigot Fr., édit. (Paris).
- 1935 LAVIER (G.). — Sur trois espèces nouvelles du Genre *Cristispira* Gross 1910, parasites de Gastéropodes d'eau douce. *Ann. de Parasit.*, XIII, 4, pp. 362-368.
- 1909 LEISHMAN (W. B.). — Preliminary note on experiments in connection with the transmission of Tick fever. *Journ. Roy. Army Med. Corps*, XII, 2, pp. 123-135.
- 1910 LEISHMAN (W. B.). — Observations on the mechanism of infection of Tick fever and the hereditary transmission of *Sp. duttoni* in the Tick. *Trans. of the Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, III, 3, pp. 76-95.
- 1910 a LEISHMAN (W. B.). — An adress on the Mechanism of Infection in « Tick fever » and on the Hereditary Transmission of *Spirochaeta duttoni* in the Tick. *The Lancet*, CLXXVIII, pp. 11-14.
- 1913-1914 LEISHMAN (W. B.). — Relapsing fever. *Trans. XVII Intern. Congr. of meet (London 1913) sect. XXI, Trop. Med. and Hyg.*, II, p. 282 et suiv.
- 1918 LEISHMAN (W. B.). — A note on the « granule-clump » found in *Ornithodoros moubata* and their relation to the Spirochaete of African relapsing fever. *Ann. Inst. Pasteur*, XXXII, pp. 49-59.
- 1920 LEISHMAN (W. B.). — *Spirochaeta duttoni*, the parasite of Tick fever. *The Lancet*, CXCIX, pp. 1237-1244.
- 1931 LÉPINE (P.). — A propos du cycle évolutif du virus syphilitique. Le Tréponème est-il virulent ? *La Presse Médicale*, 66, pp. 1233-1235.
- 1931 a LÉPINE (P.). — Forme visible et forme invisible du virus syphilitique. *Rev. de Médecine*, XLVIII, pp. 721-740.
- 1904 LEVADITI (C.). — Contribution à l'étude de la Spirillose des Poules. *Ann. Inst. Pasteur*, XVIII, 3, pp. 129-194, 1 pl. h. texte.
- 1906 LEVADITI (C.) et MANOUÉLIAN (Y.). — Nouvelles recherches sur la Spirillose des Poules. *Ann. Inst. Pasteur*, XX, pp. 593-600, 1 planche.

- 1906 a LEVADITI (C.). — Culture du *Spirillum gallinarum*. *C. R. Soc. Biol.*, I, pp. 688-689.
- 1908 LEVADITI (C.) et YAMANOUCI (Y.). — Recherches sur l'incubation dans la Syphilis. *Ann. Inst. Pasteur*, XXII, pp. 763-776, 4 pl. h. texte.
- 1909 LEVADITI (C.) et ROCHÉ (J.). — La Syphilis. Expérimentation. Microbiologie. Diagnostic. 1 vol., 396 p., 59 fig., 2 pl. h. t., Masson et C^o, édit. (Paris).
- 1924 LEVADITI (C.), NICOLAU (S.), SALGUE (J.) et SCHOEN (R.). — Mécanisme d'action du bismuth dans la Syphilis. *C. R. Acad. Sc.*, CLXXIX, pp. 939-942.
- 1926 LEVADITI (C.), NICOLAU (S.), SCHOEN (R.), GIRARD (A.) et MANIN (Y.). — Mode de résorption et mécanisme d'action du bismuth dans la syphilis expérimentale. *Ann. Inst. Pasteur*, XL, 7, pp. 541-573.
- 1927 LEVADITI (C.), SCHOEN (R.) et SANCHIS-BAYARRI (V.). — Le cycle évolutif du *Treponema pallidum*. *Bull. Acad. Méd. Paris*, XCVIII, pp. 149-152.
- 1928 LEVADITI (C.) et ANDERSON (T. E.). — Neurotropisme du *Spirochaeta Duttoni*. *C. R. Acad. Sc.*, CLXXXVI, pp. 653-654.
- 1928 a LEVADITI (C.), SCHOEN (R.) et SANCHIS-BAYARRI (V.). — Le Virus syphilitique comporte-t-il un cycle évolutif dont le *Treponema pallidum* n'est qu'une des phases connues ? *Ann. Inst. Pasteur*, XLII, pp. 475-494.
- 1929 LEVADITI (C.) et ANDERSON (T. E.). — L'état du virus de la fièvre récurrente (*Spirochaeta duttoni*) dans l'encéphale de la Souris. *C. R. Soc. Biol.*, C, pp. 1121-1123.
- 1929 a LEVADITI (C.), ANDERSON (T.), SELBIE (F. R.) et SCHOEN (R.). — Présence du Spirille de la fièvre récurrente (*Sp. duttoni*) dans le cerveau des animaux immuns. *Bull. Acad. Méd.*, CII, pp. 705-710.
- 1930 LEVADITI (C.), LÉPINE (P.) et SCHOEN (R.). — Relation entre le cycle évolutif du *Treponema pallidum* et la genèse des lésions syphilitiques. *C. R. Soc. Biol.*, CIV, pp. 72-75.
- 1930 a LEVADITI (C.). — Gommès syphilitiques et formes anormales du Tréponème pâle. Ultravirus syphilitique. *C. R. Soc. Biol.*, CIV, pp. 477-480.
- 1930 b LEVADITI (C.), ANDERSON (T.), SELBIE (F. R.) et SCHOEN (R.). — L'encéphalite récurrentielle. *Bull. Acad. Méd.*, CIII, pp. 672-689.
- 1930 c LEVADITI (C.) et LI YUAN Po. — Cycle évolutif du *Treponema pallidum*, du *Spirochaeta pertenuis* et du *Spirochaeta cuniculi*. *C. R. Soc. Biol.*, CIV, pp. 736-740.
- 1932 LEVADITI (C.) et SCHOEN (R.). — Présence du *Treponema pallidum* chez les Souris atteintes de Syphilis expérimentale. *C. R. Soc. Biol.*, CIX, pp. 811-813.
- 1932 a LEVADITI (C.), SCHOEN (R.) et VAISMAN (A.). — Le virus syphilitique comporte-t-il un cycle évolutif ? *C. R. Soc. Biol.*, CX, pp. 370-372.
- 1932 b LEVADITI (C.), MEZGER (J. G.) et SCHOEN (R.). — Syphilis expérimentale microbiologiquement apparente chez la Souris (Lymphadénie tréponémique). *C. R. Soc. Biol.*, CX, pp. 373-375.
- 1933 LEVADITI (C.) et CONSTANTINESCO (N.). — Transmission en série de la tréponémose cliniquement inapparente de la Souris. *C. R. Soc. Biol.*, CXII, pp. 46-48.
- 1933 a LEVADITI (C.), VAISMAN (A.), SCHOEN (R.) et MEZGER (J. G.). — Nouvelles recherches expérimentales sur la Syphilis. Cycle évolutif du virus syphilitique, neurosyphilis, virulence du *Treponema pallidum*. *Ann. Inst. Pasteur*, L, pp. 222-269.
- 1933 b LEVADITI (C.), VAISMAN (A.) et SCHOEN (R.). — L'état où se trouve le virus syphilitique dans le névraxe des Souris syphilitisées par voie sous-cutanée. *C. R. Soc. Biol.*, CXII, pp. 1669-1672.
- 1933 c LEVADITI (C.), VAISMAN (A.) et SCHOEN (R.). — L'état où se trouve le virus syphilitique dans le névraxe des Souris syphilitisées par voie intracérébrale. *C. R. Soc. Biol.*, CXII, pp. 60-62.

- 1933 d LEVADITI (C.), SCHOEN (R.), VAISMAN (A.) et CONSTANTINESCO (N.). — Le cycle évolutif du virus syphilitique. *Bull. Acad. Méd. Paris*, CIX, pp. 813-835.
- 1933 e LEVADITI (C.), SCHOEN (R.), MANIN (Y.), et VAISMAN (A.). — Présence de *Treponema pallidum* dans l'utérus des Souris contaminées de Syphilis. *C. R. Soc. Biol.*, CXIV, pp. 687-689.
- 1933 f LEVADITI (C.). — Etiologie et mécanisme de la parasymphilie. *Bruxelles Médical*, pp. 80-94.
- 1934 LEVADITI (C.), SCHOEN (R.) et VAISMAN (A.). — Nouvelles recherches sur le cycle évolutif du virus syphilitique. *C. R. Soc. Biol.*, CXV, pp. 104-107.
- 1934 a LEVADITI (C.), SCHOEN (R.), VAISMAN (A.) et HABER (P.). — Recherche du *Treponema pallidum* dans les ganglions lymphatiques périphériques des Souris syphilitisées expérimentalement. *C. R. Soc. Biol.*, CXV, pp. 491-494.
- 1934 b LEVADITI (C.) et DEUTSCH (V.). — A propos du cycle évolutif du virus récurrentiel. *C. R. Soc. Biol.*, CXVII, pp. 339-341.
- 1935 LEVADITI (C.), SCHOEN (R.) et VAISMAN (A.). — Cycle évolutif du *Treponema pallidum*. *C. R. Soc. Biol.*, CXIX, pp. 466-470.
- 1935 a LEVADITI (C.), VAISMAN (A.) et SCHOEN (R.). — Développement du *Treponema pallidum* dans les ganglions lymphatiques de la Souris. *C. R. Soc. Biol.*, CXIX, pp. 815-818.
- 1936 LEVADITI (C.), VAISMAN (A.), SCHOEN (R.) et MANIN (Y.). — Recherches expérimentales sur la syphilis (2^e mémoire). Variations de l'activité pathogène et cycle évolutif du virus syphilitique. En collaboration avec Paic (M.), Haber (P.) et Constantinesco (N.). *Ann. Inst. Pasteur*, LVI, pp. 251-306.
- 1936 a LEVADITI (C.), VAISMAN (A.) et SCHOEN (R.). — Recherches expérimentales sur la syphilis. Etude pathogénique de la neurosyphilis (3^e mémoire). *Ann. Inst. Pasteur*, LVI, pp. 481-510.
- 1936 b LEVADITI (C.). — Remarques à propos de la réponse de M. Bessemans. *Ann. Inst. Pasteur*, LVII, pp. 28-29.
- 1930 LI YUAN PO. — Syphilis inapparente de la Souris par inoculation intra-testiculaire de *Treponema pallidum*. *C. R. Soc. Biol.*, CV, pp. 541-545.
- 1933 LI YUAN PO. — A new method for the cultivation of *Spirochaeta recurrentis*. *Kitasato Arch. Experim. Med.*, X, 1, pp. 78-86, 1 pl.
- 1936 LI YUAN PO. — Méthode de préparation simplifiée de mon milieu pour la culture du *Spirochaeta recurrentis*. *Ann. Parasitol.*, XIV, 1, pp. 76-77.
- 1912 MAC DONAGH (J. E. R.). — The life cycle of Organism of syphilis. *The Brit. Journ. of Dermatol. and Syph.*, XXIV, pp. 381-391, 2 pl. in text.
- 1913 MAC DONAGH (J. E. R.). — The complete life history of the Organism of syphilis. *Proceed. of Roy. Soc. Med.*, VI, pp. 85-98.
- 1917 MACFIE (J. W. S.). — Urethral Spirochaetosis. *Parasitology*, IX, 2, pp. 274-292.
- 1907 MACKIE (F. P.). — A preliminary note on Bombay Spirillar Fever. *The Lancet*, II, pp. 832-835.
- 1907 a MACKIE (F. P.). — The part played by *Pediculus corporis* in the transmission of Relapsing Fever. *Brit. Med. Journ.*, pp. 1706-1709.
- 1912 MACKIE (F. P.). — Third meeting on the general malaria Committee, Madras, November. — Cité par Sergent et Foley, 1914.
- 1921 MANOUÉLIAN (Y.). — Placentas syphilitiques et Phagocytose de Tréponèmes. *Gynécol. et Obstétrique*, III, 1, pp. 1-5.
- 1921 a MANOUÉLIAN (Y.). — Tréponème pâle et Phlébite syphilitique. Etude clinique et histo-microbiologique de la Phlébite syphilitique de la veine ombilicale. *Gynécol. et Obstétrique*, III, 6, pp. 407-411.

- 1930 MANOUÉLIAN (Y.). — Gommès syphilitiques et formes anormales du tréponème. Ultravirus syphilitique. *C. R. Soc. Biol.*, CIV, pp. 249-251.
- 1931 MANOUÉLIAN (Y.). — Un nouveau type de Syphilis héréditaire. *Leçons du jeudi soir*, Clinique Tarnier, pp. 245-250. Vigot Frères, édit. (Paris).
- 1933 MANOUÉLIAN (Y.). — Phagocytose intra-placentaire des Tréponèmes. *Leçons du jeudi soir*, Clinique Tarnier, pp. 117-129. Vigot Frères, édit. (Paris).
- 1934 MANOUÉLIAN (Y.). — La syphilis héréditaire inapparente du nouveau-né. *Hommage à la mémoire du P^r Cantacuzène*; Masson et C^o, édit. (Paris), pp. 411-421.
- 1935 MANOUÉLIAN (Y.). — Syphilis expérimentale. Ganglions lymphatiques. Formes minuscules du *Spirochaeta pallida*. Spirochétogène syphilitique. *C. R. Acad. Sc.*, CC, pp. 2122-2124.
- 1935 a MANOUÉLIAN (Y.). — Syphilis tardive. Formes minuscules du *Spirochaeta pallida*. Spirochétogène syphilitique. *Ann. Inst. Pasteur*, LV, pp. 698-708.
- 1936 MANOUÉLIAN (Y.). — Syphilis placentaire. Phagocytose de Spirochètes. Spirochétogène syphilitique. *Arch. portug. Sc. Biol.*, V, pp. 267-274, 1 pl. h. t.
- 1940 MANOUÉLIAN (Y.). — Etude morphologique du *Spirochaeta pallida*. Modes de division. Spirochétogène syphilitique. *Ann. Inst. Pasteur*, LXIV, pp. 439-455, 1 pl. h. texte.
- 1933 MANTEUFEL (P.) et DRESSLER (I.). — Gewebekultur in Tyrodelösung als Kulturmedium für Rekurrensspirochaeten. *Zentralbl. f. Bakt., etc., Abt. I, Orig.*, CXXX, 3/4, pp. 188-189.
- 1903 MARCHOUX (E.) et SALIMBENI (A.). — La Spirillose des Poules. *Ann. Inst. Pasteur*, XVII, pp. 549-580.
- 1912 MARCHOUX (E.) et COUVY (L.). — *Argas* et Spirilles. *Bull. Soc. Path. Exot.*, V, 2, pp. 63-68.
- 1912 a MARCHOUX (E.) et COUVY (L.). — *Argas* et Spirochètes. *Bull. Soc. Path. Exot.*, V, 10, pp. 796-798.
- 1913 MARCHOUX (E.) et COUVY (L.). — *Argas* et Spirochètes (1^{er} mémoire). Les granules de Leishman. *Ann. Inst. Pasteur*, XXVII, pp. 450-481.
- 1913 a MARCHOUX (E.) et COUVY (L.). — *Argas* et Spirochètes (2^e partie). Le virus chez l'Acarien. *Ann. Inst. Pasteur*, XXVII, 8, pp. 621-643.
- 1930 MARCHOUX (E.) et CHORINE (V.). — Le Sang des Poules piquées par les *Argas* est virulent en l'absence de Spirochètes apparents. *C. R. Soc. Biol.*, CIV, pp. 259-260.
- 1932 MARCHOUX (E.) et CHORINE (V.). — Culture des formes invisibles du Spirochète des Poules. *C. R. Acad. Sc.*, CXIV, pp. 917-918.
- 1933 MARCHOUX (E.) et CHORINE (V.). — Les Formes infravisibles des Spirochètes deviennent visibles dans les cultures. *C. R. Soc. Biol.*, CXII, pp. 945-946.
- 1933 a MARCHOUX (E.) et CHORINE (V.). — Cycle évolutif des Spirochètes. *C. R. Soc. Biol.*, CXIII, pp. 1417-1419.
- 1933 b MARCHOUX (E.) et CHORINE (V.). — Culture du Spirochète des Poules. Virus visible et invisible. *Ann. Inst. Pasteur*, LII, pp. 477-502.
- 1935 MARCHOUX (E.), CHORINE (V.) et KOEHLIN (D.). — Infection et immunité conférée par les Spirochètes des Poules en cultures artificielles. *C. R. Soc. Biol.*, CXIX, 27, pp. 1280-1281.
- 1939 MARCHOUX (E.), CHORINE (V.) et CROUGUE (O.). — Virulence des cultures de *Spirochaeta gallinarum* au stade invisible. *C. R. Soc. Biol.*, CXXXI, 20, pp. 845-867.
- 1926 MATHIS (C.) et GALLOWAY (I. A.). — Culture *in vitro* du Spirochète de la Musaraigne. *C. R. Soc. Biol.*, XCV, pp. 978-979.
- 1914 MEIROWSKY (E.). — Untersuchungen über die Stellung der Spirochäten im System. *Munch. Mediz. Woch.*, LXI, pp. 592-596.

- 1929 MEIROWSKY (E.). — Der gegenwärtige Stand der Frage eines Entwicklungskreises der *Spirochaeta pallida*. *Dermatol. Woch.*, LXXXVIII, pp. 765-770.
- 1908 MAYER (M.). — Beiträge zur Morphologie der Spirochaeten (*Sp. duttoni*). *Archiv f. Schiffs. u. Trop. Hyg.*, Beihefte, XII, 1, pp. 1-13, 1 pl.
- 1929 MORODER MUEDRA (Juan). — Estado actual del cultivo del treponema de la fiebre recurrente. *Medicina Paises calidos*, II, 6, pp. 552-562, Madrid.
- 1929 MOSKWIN (I. A.). — Ueber die Rolle der Zeckle (Ixodidae) *ornithodoros papillipes* Bir. (Turkestan) in der Uebertragung des Rückfallfiebers. *Zeitschr. f. Parasitenk.*, II, 1, pp. 73-89, 8 fig.
- 1906 MÜHLENS (P.) et HARTMANN (M.). — Über *bac. fusiformis* und *Spirochaeta dentium*. *Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krankh.*, LV, pp. 81-92.
- 1912 MÜHLENS (P.). — In *Handb. der Pathogenen Protozoen* von Prowazek, t. I, pp. 405 et suiv., J. A. Barth, édit. (Leipzig).
- 1905 MULZER (P.). — Ueber das Vorkommen von Spirochaeten bei syphilitischen und anderen Krankheitsprodukten. *Berlin. Klin. Woch.*, XLII, 36, pp. 1144-1149.
- 1912 NICOLLE (C.), BLAIZOT (L.) et CONSEIL (E.). — Etiologie de la fièvre récurrente. Son mode de transmission par le Pou. *C. R. Acad. Sc.*, CLIV, pp. 1636-1638.
- 1912 a NICOLLE (C.), BLAIZOT (L.) et CONSEIL (E.). — Conditions de transmission de la fièvre récurrente par le Pou. *C. R. Acad. Sc.*, CLV, pp. 481-484.
- 1912 b NICOLLE (C.), BLAIZOT (L.) et CONSEIL (E.). — Etiologie de la fièvre récurrente. Son mode de transmission par le Pou. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, XXVI, 3, pp. 110-112.
- 1913 NICOLLE (C.), BLAIZOT (L.) et CONSEIL (E.). — L'épidémie tunisienne et la démonstration expérimentale de la transmission de la fièvre récurrente par les Poux. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, VIII, pp. 1-30.
- 1913 a NICOLLE (C.), BLAIZOT (L.) et CONSEIL (E.). — Etiologie de la fièvre récurrente. Son mode de transmission par les Poux. *Ann. Inst. Pasteur*, 3, pp. 204-225.
- 1914 NICOLLE (C.) et BLANC (G.). — Les Spirilles de la fièvre récurrente sont-ils virulents aux phases successives de leur évolution chez le Pou ? Démonstration de leur virulence à un stade invisible. *C. R. Acad. Sc.*, CLVIII, pp. 1815-1817.
- 1914 a NICOLLE (C.) et BLANC (G.). — Etudes sur la fièvre récurrente poursuivies à l'Institut Pasteur de Tunis. Deuxième mémoire. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, IX, 2, pp. 69-82.
- 1919 NICOLLE (C.) et LEBAILLY (C.). — Les infections expérimentales inapparentes. Exemples tirés de l'étude du typhus exanthématique. *C. R. Acad. Sc.*, CLXVIII, pp. 800-801.
- 1920 NICOLLE (C.) et LEBAILLY (C.). — Contribution à la connaissance de l'évolution des Spirochètes de la fièvre récurrente chez le Pou. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, XI, 3, pp. 131-137, 1 pl.
- 1927 NICOLLE (C.). — L'évolution des Spirochètes et le mécanisme de la crise dans les Spirochètoses. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, XVI, pp. 207-217.
- 1911 NOGUCHI (H.). — A method for Pure cultivation of Pathogenic *Treponema pallidum* (*Spirochaeta pallida*). *Journ. of Exper. Med.*, XIV, pp. 99-108, 4 pl. h. t.
- 1912 NOGUCHI (H.). — Morphological and Pathogenic variations in *Treponema pallidum*. *Journ. of Exper. Med.*, XV, pp. 201-204, 1 pl. h. t.
- 1912 a NOGUCHI (H.). — The pure cultivation of *Spirochaeta duttoni*, *Spirochaeta kochi*, *Spirochaeta obermeieri*, and *Spirochaeta novyi*. *Journ. of Exper. Med.*, XVI, pp. 199-210, 2 pl. h. t.

- 1912 b NOGUCHI (H.). — Pure cultivation of *Spirochaeta phagedenis* (nov. sp.). A spiral organism found in phagedenic lesions of human external genitalia. *Journ. of Exper. Med.*, XVI, 3, pp. 261-268, 2 pl. h. t.
- 1912 c NOGUCHI (H.). — Cultivation of *Spirochaeta gallinarum*. *Journ. of Exper. Med.*, XVI, pp. 620-628, 1 pl. h. t.
- 1913 NOGUCHI (H.). — On some of the recent advances in the Field of Microbiology; with demonstrations of Pure cultures of various Spirochaetes of the Viruses of Rabies and Polymyelitis, and of *Treponema pallidum* in brains of General Paralytics (occasional lectures). *Proc. Roy. Soc. Med.*, VII, pt. I, pp. 3-30.
- 1913 a NOGUCHI (H.). — Etat actuel de la Culture du Tréponème pâle. *La Presse Médicale*, 81, pp. 801-804.
- 1917 NOGUCHI (H.). — Spirochaetes. *The Amer. Journ. of Syph.*, I, 2, pp. 261-346.
- 1921 NOGUCHI (H.). — *Cristispira* in north american shellfish. A note on a *spirillum* found in oysters. *Journal of Exper. Med.*, XXXIV, 3, pp. 295-315, 4 pl. h. t.
- 1905 NORRIS (Ch.), PAPPENHEIMER (A.) et FLOURNEY (Th.). — Preliminary communication on an infection by white rats Spirochaetes and observations on the multiplication of Spirochaetes. *VII th. annual meeting of Amer. Bacteriol. Society*, 28 et 29 dec. (Michigan).
- 1906 NORRIS (Ch.), PAPPENHEIMER (A.) et FLOURNEY (Th.). — Study of a Spirochaete obtained from a case of relapsing fever in man, with notes on morphology, animal reactions and attempts on cultivation. *Journ. of Inf. Diseases*, III, pp. 266-290.
- 1906 NOVY (F. G.) et KNAPP (R. E.). — *Spirochaeta Obermeieri* (Preliminary note). *Journ. of Amer. Med. Ass.*, XLVI, p. 116.
- 1906 a NOVY (F. G.) et KNAPP (R. E.). — The cultivation of *Spirillum obermeieri*. Preliminary note. *Journ. of Amer. Med. Ass.*, XLVII, pp. 2152-2154.
- 1906 b NOVY (F. G.) et KNAPP (R. E.). — Studies on *Spirillum obermeieri* and Related Organisms. *Journ. of Inf. Diseases*, III, pp. 291-313, 4 pl. microph.
- 1933 NYKA (W.). — Contribution à l'étude des ganglions lymphatiques de Lapins syphilités. *C. R. Soc. Biol.*, CXIV, pp. 994-997.
- 1933 a NYKA (W.). — Contribution à l'étude des organes réputés virulents de la Souris syphilitée. *C. R. Soc. Biol.*, CXIV, pp. 1072-1074.
- 1933 b NYKA (W.). — Contribution à l'étude du mécanisme de la transmission de la syphilis de la mère à l'embryon chez la Lapine et la Souris. *C. R. Soc. Biol.*, CXIV, pp. 1258-1260.
- 1934 NYKA (W.). — Le virus syphilitique : ses variations morphologiques, sa multiplication et son action pathogène. *Ann. Inst. Pasteur*, LIII, pp. 243-281.
- 1936 NYKA (W.). — A propos de la multiplication du Spirochète syphilitique. *C. R. Soc. Biol.*, CXXI, pp. 97-99.
- 1938 NYKA (W.). — Nouvelles recherches sur le polymorphisme du virus syphilitique dans les ganglions lymphatiques du Lapin. *Ann. Inst. Pasteur*, LX, pp. 316-344.
- 1939 OAG (R. K.). — The growth of *Borellia duttoni* in the developping egg. *Journ. of Path. and Bact.*, XLIX, 2, pp. 339-344, 1 pl., 2 fig.
- 1911 O'FARREL (W. R.) et BALFOUR (A.). — Granule shedding in *Treponema pallidum* and associated *Spirochaetae*. *Journ. Roy. Army Med. Corps*, XVII, pp. 225-230.
- 1922 PEARCE (L.) et BROWN (W. H.). — A Study of the relation of *Treponema pallidum* to lymphoid tissues in experimental tissues. *Journ. of Exper. Med.*, XXXV, pp. 39-62.
- 1905 PERRIN (W. S.). — A preliminary communication in the Life history of *Trypanosoma balbianii*. *Proc. Roy. Soc. Biol.*, ser. B., LXXVI, B 510, pp. 368-375, 4 fig.

- 1906 PERRIN (W. S.). — Researches upon the life history of *Trypanosoma balbianii* Certes. *Archiv f. Protistenk.*, VII, pp. 131-156, 2 pl. et 26 fig. in texte.
- 1928 PETTIT (A.). — Contribution à l'étude des Spirochétidés. 2 vol. Chez l'auteur (Vanves, Seine).
1910. PONSSELLE (A.). — Contribution à la physiologie du *Spirillum gallinarum*. Assimilation du glucose (première note). *C. R. Soc. Biol.*, XLIX, pp. 307-309.
- 1909-1910 PORTER (A.). — Some observations on living Spirochaetes from lamellibranches. *Arch. Zool. Exp. et Gén.*, III, pp. 1-26. Ibid. in *Quart. Journ. Micr. Sc.*, LV, pp. 189-224, 2 pl. h. texte.
- 1940 PRÉVOT (A. R.). — Manuel de classification et de détermination des Bactéries anaérobies. 1 vol. 223 p., Masson et C^o, édit. (Paris).
- 1906 PROWAZEK (S. von). — Morphologische und Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über Hühnerspirochaeten. *Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, XXIII, 2, pp. 554-569, pl. I et II.
- 1907 PROWAZEK (S. von). — Vergleichende Spirochaetauntersuchungen. *Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, XXVI, 1, pp. 23-31, 1 pl.
- 1909 PROWAZEK (S. von). — Contribução para o estudo do desenvolvimento do *Spirochaeta gallinarum*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, I, pp. 79-80.
- 1912 PROWAZEK (S. von). — Handb. der Pathogenen Protozoen. Tome I, 515 p., 7 pl. h. t., J. A. Barth, édit. (Leipzig).
- 1929 REMLINGER (P.) et BAILLY (J.). — Siège du virus récurrent Hispano-marocain (*Spirochaeta hispanicum* var. *marocanum*, souche Tetuan) chez les animaux artificiellement infectés. *C. R. Soc. Biol.*, CII, pp. 548-550.
- 1930 REMLINGER (P.) et BAILLY (J.). — Comportement du *Spirochaeta hispanicum*, var. *marocanum* (souche Tetuan) dans le cerveau des animaux réceptifs et réfractaires. *C. R. Soc. Biol.*, CV, pp. 433-435.
- 1930 ROUKAVISCHNIKOFF (E. J.). — Zur Frage der Entwicklungsstadien des Syphiliserregers, die im Blute des infizierten Menschen und der Versuchstiere zirkulieren. *Centralbl. f. Bakt., etc.*, Abt. I, Orig., CXV, pp. 66-71.
- 1931 SALEEBY (E.) et GREENBAUM (S. S.). — Comparative biologic and histologic study of lymphglands from syphilitic patients. *The Journ. Amer. Med. Ass.*, XCVI, pp. 98-100.
- 1927 SANARELLI (G.). — Identité entre Spirochètes et Bacilles fusiformes. Les héliconèmes « Vincenti ». *Ann. Inst. Pasteur*, 7, pp. 679-720, 2 pl. h. t.
- 1934 SCHARRER (B.). — Ein serumfreier Nährboden für Hühnerspirochaeten. *Zentralbl. f. Bakt., etc.*, Abt. I, Orig., CXXXII, 3/4, pp. 243-244.
- 1902 SCHAUDINN (Fr.). — Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen (*Bac. Butschlii* n. sp.). *Archiv f. Protistenk.*, I, pp. 306-343, 1 pl.
- 1905 SCHAUDINN (Fr.) et HOFFMANN (Er.). — Vorläufiger Bericht über das Vorkommen von Spirochaeten in Syphilitischen Krankheitsprodukten im bei papillomen. *Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, XXII, 2, pp. 527-534.
- 1905 a SCHAUDINN (Fr.) et HOFFMANN (Er.). — Ueber Spirochaeten befunde im lymphdrüsensaft Syphilitischer. *Deut. Med. Woch.*, 18, pp. 711-714.
- 1905 b SCHAUDINN (Fr.) et HOFFMANN (Er.). — Ueber *Spirochaeta pallida* bei Syphilis und die Unterschiede dieser Form gegenüber anderen Arten dieser Gattung. *Berlin. Klin. Woch.*, 22, pp. 673-675; et 3, p. 726.
- 1905 c SCHAUDINN (Fr.) et HOFFMANN (Er.). — Zur kenntnis der *Spirochaeta pallida*. *Deut. Med. Woch.*, XXXI, 42, pp. 1665-1667.

- 1907 SCHAUDINN (Fr.). — Zur kenntnis der *Spirochaeta pallida* und anderen Spirochaetenarten (publié après la mort de Schaudinn par M. Hartmann et S. von Prowazek). *Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, XXVI, pp. 11-22, pl. II et III.
- 1908 SCHELLACK (C.). — Morphologische Beiträge zur Kenntnis der europäischen, amerikanischen und afrikanischen Recurrensspirochaeten. *Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, XXVII, pp. 364-387.
- 1909 SCHELLACK (C.). — Studien zur Morphologie und systematik der Spirochaeten und Muscheln. *Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, XXX, 2, pp. 379-428, 6 pl. h. texte.
- 1912 SCHMAMINE (T.). — Ueber die Reinzüchtung der *Spirochaeta pallida* und der nadelförmigen Bakterien aus syphilitischen Material mit besonderer Berücksichtigung der Reinkultur von *Spirochaeta dentium* und des *Bac. fusiformis* aus der Mundhöhle. *Centralbl. f. Bakt., etc., Abt. I, Orig.*, LXV, pp. 311-337, 4 planches.
- 1907 SCHMORL (Fr.). — Mitteilung zur Spirochaetenfrage. *Munch. Med. Woch.*, V, pp. 188-189.
- 1910 SCHUBERG et MANTEUFEL. — Ueber erworbene Immunität gegen Rekurrens bei *ornithodoros moubata*. *Zeitschr. f. Imm. forsch.*, IV, pp. 512-515.
- 1930 SÉGUIN (P.). — *Treponema calligyrum* et ultravirus spirochétique. *C. R. Soc. Biol.*, CIV, pp. 247-248.
- 1930 a SÉGUIN (P.). — *Spirochaeta gallinarum* et formes dites ultravirus. *C. R. Soc. Biol.*, CIV, pp. 836-838.
- 1938 SÉGUIN (P.) et VINZENT (R.). — Les spirochètes commensaux de l'Homme (premier mémoire). *Ann. Inst. Pasteur*, LXI, pp. 255-295.
- 1939-1940 SÉGUIN (P.). — Le granule spirochétogène. Etude morphologique et biologique. *Ann. Dermatol. et Syphiligr.*, X, 10, pp. 833-861.
- 1908 SERGENT (Ed.) et FOLEY (H.). — Fièvre récurrente du Sud-Oranais et *Pediculus vestimentii*. Note préliminaire. *Bull. Soc. Path. Exot.*, I, 3, pp. 174-176.
- 1910 SERGENT (Ed.) et FOLEY (H.). — Recherches sur la fièvre récurrente et son mode de transmission dans une épidémie algérienne. *Ann. Inst. Pasteur*, XXIV, pp. 337-373.
- 1911 SERGENT (Ed.), GILLOT (V.) et FOLEY (H.). — Typhus récurrent algérien. Sa transmission par les Poux. Sa guérison par l'Arsenobenzol. *C. R. Soc. Biol.*, LXX, pp. 1039-1040.
- 1911 a SERGENT (Ed.), GILLOT (V.) et FOLEY (H.). — La Spirillose nord africaine et sa transmission par les Poux. *Bull. Soc. Path. Exot.*, IV, 7, pp. 438-440.
- 1914 SERGENT (Ed.) et FOLEY (H.). — De la période de latence chez le Pou infecté de fièvre récurrente. *C. R. Acad. Sc.*, CLIX, pp. 119-122.
- 1910 SÉZARY (A.). — Histomicrobiologie de l'Artérite syphilitique. *La Presse Médicale*, 99, pp. 929-931.
- 1910 a SÉZARY (A.). — Sur une forme annulaire du Tréponème pâle. *C. R. Soc. Biol.*, LXIX, pp. 339-340.
- 1912 SÉZARY (A.). — Les formes atypiques et la forme granuleuse du Tréponème pâle. *C. R. Soc. Biol.*, CV, pp. 444-446.
- 1934 SÉZARY (A.). — La Syphilis (Microbiologie). In *Encyclopédie Médico-chirurgicale*, 3003, pp. 1-10 (Paris, rue Séguier).
- 1937 SIMON (Clément) et MOLLINEDO (R.). — Présence dans les adénites primaires syphilitiques, de formes minuscules du tréponème pâle, munies d'un filament terminal; présence constatée avant l'apparition des formes typiques spiralées et après la disparition de celles-ci. *Bull. Soc. Fr. Dermatol. et Syphiligr.*, 9, pp. 2046-2049.
- 1940 SIMON (Clément) et MOLLINEDO (R.). — Diagnostic de la Syphilis par la recherche du « granule spirochétogène ». *La Presse Médicale*, 46, pp. 513-516, 21 microphot.

- 1931 SIMON (Clément) et MOLLINEDO (R.). — Présence de granules spirochétogènes dans les gommies syphilitiques. *Bull. Soc. Fr. Dermatol. et Syphiligr.*, XLVIII, pp. 202-204, c/f également pp. 204-208.
- 1941 a SIMON (Clément) et MOLLINEDO (R.). — Le granule spirochétogène dans les gommies syphilitiques cutanées. *La Presse Médicale*, 37, pp. 464-466, 7 fig. microphot.
- 1927 STREMPER (R.) et ARMUZZI (G.). — Studien über das experimentelle Ruckfallfieber. Die Beziehungen der Recurrensprophäse zum Gewebe. *Klin. Woch.*, 5, pp. 200-204.
- 1931 STREMPER (R.). — Frühzeitiger Spirochätennachweis in skrotalen Impffherden von Kaninchen nach Einimpfung von Poplitealdrüsen latent syphilitischer Kaninchen. *Dermatol. Zeitschr.*, LXI, pp. 1-6.
- 1937 STROESCO (G.) et VAISMAN (A.). — La Syphilis expérimentale cliniquement inapparente de la Souris. *Ann. Inst. Pasteur*, LIX, 4, pp. 403-436.
- 1907 SWELLENGREBEL (N.-H.). — Sur la cytologie des Spirochètes et des Spirilles. *Ann. Inst. Pasteur*, XXI, 6, pp. 448-465; et 7, pp. 562-586, 2 pl. et 83 fig.
- 1909 SWELLENGREBEL (N.-H.). — Neuere untersuchungen über die vergleichende cytologie der Spirillen und Spirochäten. *Centralbl. f. Bakt., etc., Abt. I, Orig.*, XLIX, 4, pp. 529-550, 2 planches.
- 1929 TALICE (R. V.) et SURRACO (N.). — Sur la culture du *Treponema hispanicum*. *Ann. Parasitol.*, VII, 2, pp. 133-139.
- 1913 TODD (J. L.). — A note on the transmission of Spirochaetes. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, X, 4, pp. 134-135.
- 1919 TODD (J. L.). — The granules of *Spirochaeta duttoni*. *Bull. Soc. Path. Exot.*, XII, 9, pp. 595-600.
- 1912 TOURAINE (A.). — Les Anticorps syphilitiques. Essais de séro-agglutination de la Syphilis. *Thèse Doct. Med.* (Paris), 211 p., Steinheil, édit. (Paris), 2 pl.
- 1906 TUNNICLIFF (R.). — The identity of Fusiform Bacilli and Spirilla. *Journ. of Inf. Diseases*, III, pp. 148-155.
- 1923 TUNNICLIFF (R.). — The life cycle of *Bacillus fusiformis*. *Journ. of Inf. Diseases*, XXXIII, pp. 147-154, 1 pl.
- 1913 TRUFFI (M.). — Sulla rapidità di passaggio del Virus sifilitico alle ghiandole linfatiche. *Pathologica*, V, pp. 316-317.
- 1918 UNGERMANN (E.). — Züchtung der Weil'schen Spirochäte, der Rekurrens und Hühner spirochäte sowie Kulturversuche mit der *Sp. pallida* und Trypanosomen. *Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, LI, pp. 114-158.
- 1933 VAN HÆLST (J.). — Recherche de *Treponema pallidum* dans différents organes de la Souris blanche atteinte de syphilis expérimentale inapparente. *C. R. Soc. Biol.*, CXIII, pp. 1535-1537.
- 1933 a VAN HÆLST (J.). — Evaluation approximative de la teneur ganglionnaire en Tréponèmes chez le Lapin syphilitisé. *C. R. Soc. Biol.*, CXIV, pp. 174-176.
- 1933 b VAN HÆLST (J.). — Adénopathie régionale avec présence de tréponèmes chez le Cobaye atteint de syphilis expérimentale. *Ann. Inst. Pasteur*, LI, 6, pp. 714-736.
- 1933 c VAN HÆLST (J.). — Observations sur la syphilis expérimentale des petits rongeurs de Laboratoires et recherches sur l'existence éventuelle de formes invisibles du Virus syphilitique. *Arch. intern. Méd. exper.*, VIII, 4, pp. 543-548.
- 1934 VAN HÆLST (J.). — Ueber die Frage des Vorkommens einer invisiblen Form des Syphiliserregers. *Dermatol. Zeitschr.*, LXIX, pp. 212 et suiv.
- 1930 WARTHIN (A. S.) et OLSEN (R. E.). — The granular transformation of *Spirochaeta pallida* in aortic focal lesions. *The Amer. Journ. of Syph.*, XIV, pp. 433-437.

- 1931 WARTHIN (A. S.) et OLSEN (R. E.). — The apparent sequence of Spirochetes and granular forms in syphilitic buboes. *The Amer. Journ. of Syph.*, XV, pp. 145-154.
- 1914 WOLBACH (S. B.). — The Distribution and Morphology of *Sp. duttoni* and *Sp. kochi* in experimentally infected ticks (*Ornithodoros moubata*). *Journ. of Med. Researches*, XXX, 1, pp. 37-48, 3 pl.
- 1933 YASUMOTO (K.). — Study on experimental syphilis in Rats. The histological features of the iliaca lymphatic node in syphilitic rats. *Lues* (Kyoto), 2, réf. 9-10, vol. IX.
- 1906 ZETTNOW (E.). — Geisseln bei Hühner-und Recurrens-Spirochaeten. *Deut. Med. Woch.*, pp. 376-377, 2 fig.
- 1906 a ZETTNOW (E.). — Färbung und Teilung bei Spirochaeten. *Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krankh.*, LII, 3, pp. 485-492, et p. 539, 1 pl. h. texte.
- 1910 ZUELZER (M.). — Ueber *Sp. plicatilis* und *Spirulina*. *Zool. anzeiger*, Leipzig, XXXV, pp. 795-797, 1 fig.
- 1911 ZUELZER (M.). — Ueber *Spirochaeta plicatilis* Ehr. und deren Verwandtschaftsbeziehungen. *Archiv f. Protistenk.*, XXIV, pp. 1-59, 4 pl.
- 1917 ZUELZER (M.). — Ueber die Weil'sche Spirochäte und deren Beziehungen zu verwandten Organismen. *Sitzungsber. d. Gesellsch. naturforsch. Freunde*. Berlin.
- 1918 ZUELZER (M.). — Beiträge zur Kenntnis der Morphologie und Entwicklung der Weil'schen Spirochäte. *Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, LI, pp. 159-179, 4 pl. h. texte.
-

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Les Acariens transmetteurs de virus

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 7 Août 1941.

Le Doyen de la Faculté des Sciences

Ch. MAURAIN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

*Le Doyen de la Faculté des Sciences,
chargé des Fonctions de Recteur
de l'Académie de Paris.*

Ch. MAURAIN



